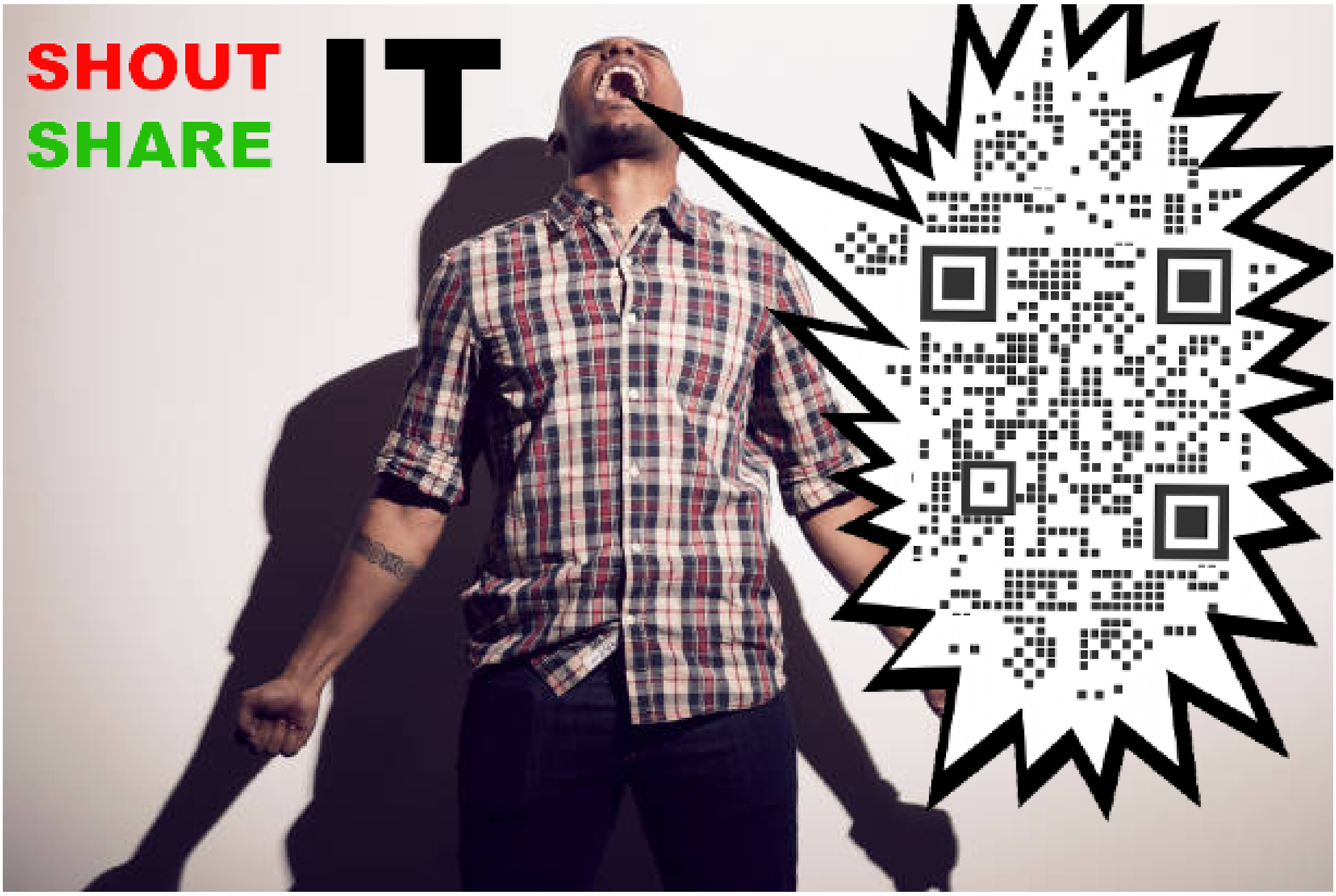
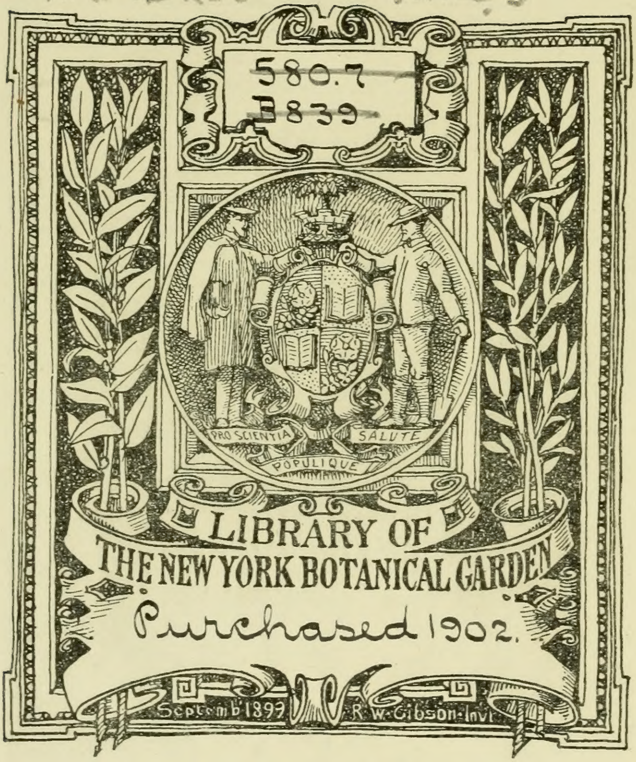

SHOUT
SHARE
IT

XR. .E255 Tome 5



~~580.7~~
~~B839~~

PRO SCIENTIA POPULIQUE SALUTE

LIBRARY OF
THE NEW YORK BOTANICAL GARDEN
Purchased 1902.

Septemb 1899 R.W. Gibson Invt

# RECUEIL

DE

# L'INSTITUT BOTANIQUE

(UNIVERSITÉ DE BRUXELLES)

Brussels (Belgi

PUBLIÉ PAR

L. ERRERA

## TOME V

AVEC HUIT FIGURES DANS LE TEXTE ET NEUF PLANCHES

BRUXELLES
HENRI LAMERTIN, ÉDITEUR-LIBRAIRE
20, RUE DU MARCHÉ AU BOIS, 20

1902

# RECUEIL

DE

# L'INSTITUT BOTANIQUE

Bruxelles. — Hayez, imp. de l'Acad. royale.

# RECUEIL
DE
# L'INSTITUT BOTANIQUE

(UNIVERSITÉ DE BRUXELLES)

PUBLIÉ PAR

L. ERRERA

## TOME V

AVEC HUIT FIGURES DANS LE TEXTE ET NEUF PLANCHES

BRUXELLES
HENRI LAMERTIN, ÉDITEUR-LIBRAIRE
20, RUE DU MARCHÉ AU BOIS, 20
—
1902

XR
E255
Tome 5

LIBRARY
NEW YORK
BOTANICAL
GARDEN

# PRÉFACE

L'extrême dispersion des mémoires scientifiques, disséminés dans des centaines de publications difficiles à réunir, devient un obstacle chaque jour plus grand aux recherches nouvelles. Tout effort de coordination et de concentration est donc justifié. Il paraît naturel surtout de rassembler les travaux relatifs à un même ordre général d'études et qui, émanant d'un même Laboratoire, ont à ce titre une sorte de parenté par les tendances et par la méthode. C'est ce que plusieurs Instituts universitaires ont compris, et c'est ce que nous voudrions tenter à notre tour en éditant ce *Recueil de l'Institut botanique de l'Université de Bruxelles*.

SEP 19 1902

Qu'ils aient déjà paru ailleurs ou qu'ils soient inédits, tous les travaux de l'Institut botanique y trouveront place. Dans les réimpressions, aucun changement (sauf de simples retouches de style) n'a été apporté au texte primitif, à moins que le contraire ne soit indiqué formellement : lorsque des corrections ou des additions ont paru utiles, on les a mises entre crochets avec mention de leur date, de manière à éviter tout malentendu. Au contraire, la date inscrite au haut de chaque page est celle de la publication première du mémoire correspondant.

Afin de ne pas allonger le Recueil outre mesure, on se bornera pour quelques-uns des travaux faits à l'Institut, à citer leur titre ou à résumer les points principaux. Ces résumés seront également placés entre crochets et datés.

Les volumes de ce *Recueil* se succéderont à des intervalles irréguliers ; ils seront, s'il y a lieu, publiés par fascicules. Pour la facilité de certaines réimpressions, on a commencé par les plus récentes (1900-1901), qui forment le présent tome V. Les tomes I-IV, qui comprendront essentiellement des mémoires de 1882 à 1900, sont en préparation.

Institut botanique (Université de Bruxelles).
15 février 1902.

# TABLE DES MATIÈRES

## DU TOME V.

Pages.

PRÉFACE . . . . . . . . . . . . . . . . . . . . . . . . . v

G. CLAUTRIAU, *Nature et signification des alcaloïdes végétaux* . . . . . . . . . . . . . . . . . . . . . . . . 1

(*Annales de la Société royale des Sciences médicales et naturelles de Bruxelles*, t. IX, 1900.)

I. NATURE DES ALCALOÏDES . . . . . . . . . . . . . . . . 1

II. DISTRIBUTION ET LOCALISATION DES ALCALOÏDES . . . . 6

III. RECHERCHES SUR LA CAFÉINE . . . . . . . . . . . . . 24

- Historique . . . . . . . . . . . . . . . . . . . . . 24
- Propriétés chimiques de la caféine . . . . . . . . . 29
- Recherche microchimique de la caféine . . . . . . . 32
- Recherche chimique de la caféine . . . . . . . . . . 36
- Répartition de la caféine dans les diverses parties du Caféier et du Thé . . . . . . . . . . . . . . . . . . 38

RECHERCHES PHYSIOLOGIQUES SUR LES COFFEA ET LES THEA . . . . . . . . . . . . . . . . . . . . . . . . 43

A. — *Coffea arabica* et *Coffea liberica* . . . . . . . . 43

- Germination . . . . . . . . . . . . . . . . . . . . . 44
- Mise à l'obscurité . . . . . . . . . . . . . . . . . . 47
- Expériences d'annélations . . . . . . . . . . . . . . 49
- Annélations à l'obscurité . . . . . . . . . . . . . . 53
- Annélations à la lumière en l'absence de $CO^2$ . . . 54

B. — *Thea sinensis* et *Thea assamica* . . . . . . . . . 55

- Germination . . . . . . . . . . . . . . . . . . . . . 56
- Mise à l'obscurité . . . . . . . . . . . . . . . . . . 58
- Influence des aliments azotés sur la teneur en caféine 59
- Expériences d'annélations . . . . . . . . . . . . . . 62

IV. SIGNIFICATION ET RÔLE DES ALCALOÏDES . . . . . . . 66

CONCLUSIONS . . . . . . . . . . . . . . . . . . . . . . 86

Pages.

G. CLAUTRIAU, *La digestion dans les urnes de* Nepenthes . . . . . . . . . . . . . . . . . . . . . . . . . 89

(*Mémoires couronnés et autres mémoires* in-8° de l'Académie royale de Belgique, t. LIX, 1900.)

PREMIÈRE PARTIE.

I. Considérations générales sur la digestion. . . . . . . . 89
II. Généralités sur les plantes carnivores . . . . . . . . . 93
III. Caractères des *Nepenthes* . . . . . . . . . . . . . . . . 95
IV. Considérations sur les zymases protéolytiques et leurs produits de dédoublement. . . . . . . . . . . . . . 102

SECONDE PARTIE.

RECHERCHES PERSONNELLES.

I. Substances employées dans ces recherches . . . . . . . 107
II. Observations biologiques et recherches physiologiques sur le *Nepenthes melamphora*. . . . . . . . . . . . . 110
III. Expériences sur divers *Nepenthes* cultivés en serre :
  *A*. Méthode employée pour la séparation des produits de la digestion. . . . . . . . . . . . . . . . . . 121
  *B*. Examen du liquide des urnes au point de vue de la présence de zymases. . . . . . . . . . . . . 122
  *C*. Digestion dans l'urne . . . . . . . . . . . . . . . 125
  *D*. Résorption des produits de la digestion . . . . . 126
  *E*. Étude de la résorption. Examen microchimique . 127
  *F*. Nature de la zymase contenue dans l'urne . . . . 129

CONCLUSIONS . . . . . . . . . . . . . . . . . . . . . . . 130
BIBLIOGRAPHIE . . . . . . . . . . . . . . . . . . . . . . 132

E. VANDERLINDEN, *Recherches microchimiques sur la présence des alcaloïdes et des glycosides dans la famille des Renonculacées* (avec deux planches en couleurs) . . . . . . . . . . . . . . . . . . . . . . . . . 135

(*Annales de la Société royale des Sciences médicales et naturelles de Bruxelles*, t. X, 1901.)

INTRODUCTION . . . . . . . . . . . . . . . . . . . . . . . 135
Liste des alcaloïdes et glycosides indiqués dans les Renonculacées . . . . . . . . . . . . . . . . . . . . . . . . . 142

Tome V.

Pages
Liste des espèces étudiées dans ce travail . . . . . . . . . . 144
§ I. Caltha palustris . . . . . . . . . . . . . . . . . 144
§ II. Genre Delphinium . . . . . . . . . . . . . . . . 150
*D. hybridum* . . . . . . . . . . . . . . . . . 151
*D. Consolida* . . . . . . . . . . . . . . . . . 154
*D. Ajacis* . . . . . . . . . . . . . . . . . . 155
*D. Staphisagria* . . . . . . . . . . . . . . . . 156
*D. grandiflorum* . . . . . . . . . . . . . . . . 158
§ III. Genre Aconitum . . . . . . . . . . . . . . . . 159
*A. Lycoctonum* . . . . . . . . . . . . . . . . 159
*A. Anthora* . . . . . . . . . . . . . . . . . . 161
§ IV. Genre Adonis . . . . . . . . . . . . . . . . . 162
*A. vernalis* et *A. aestivalis* . . . . . . . . . . . . 163
§ V. Genre Ranunculus . . . . . . . . . . . . . . . . 164
§ VI. — Clematis . . . . . . . . . . . . . . . . . 165
§ VII. — Cimicifuga . . . . . . . . . . . . . . . . 166
§ VIII. — Ficaria . . . . . . . . . . . . . . . . . 166
§ IX. — Thalictrum . . . . . . . . . . . . . . . . 166
§ X. Eranthis hiemalis . . . . . . . . . . . . . . . . 167
§ XI. Genre Pæonia . . . . . . . . . . . . . . . . . 167
§ XII. — Anemone . . . . . . . . . . . . . . . . . 167
§ XIII. Actæa spicata . . . . . . . . . . . . . . . . . 168
§ XIV. Genre Helleborus . . . . . . . . . . . . . . . 168
*H. niger* . . . . . . . . . . . . . . . . . . 169
§ XV. Genre Nigella . . . . . . . . . . . . . . . . . 171
*N. damascena* . . . . . . . . . . . . . . . . . 172
*N. sativa* . . . . . . . . . . . . . . . . . . 173
*N. vernalis* . . . . . . . . . . . . . . . . . 174
§ XVI. Aquilegia vulgaris . . . . . . . . . . . . . . . 174
§ XVII. Conclusions . . . . . . . . . . . . . . . . . 175
Explication des planches . . . . . . . . . . . . . . . 177

Pages.

J. MASSART, *Recherches sur les organismes inférieurs. IV. Le lancement des trichocystes chez* Paramaecium Aurelia . . . . . . . . . . . . . . . . . . . . 179

(*Bulletin de l'Académie royale de Belgique*, Classe des Sciences, 1901, n° 2.)

I. Excitants du bolisme. . . . . . . . . . . . . . . . 180

*A*. Agents mécaniques . . . . . . . . . . . . . . 180

*B*. Agents physiques
- 1. Électricité . . . . . . . . 181
- 2. Température . . . . . . . 181
- 3. Pression osmotique . . . . 182

*C*. Agents chimiques . . . . . . . . . . . . 182

II. Modificateurs du bolisme . . . . . . . . . . . . . . 185

*A*. Agents mécaniques . . . . . . . . . . . . . . . 186

*B*. Agents physiques
- 1. Température . . . . . . . 186
- 2. Pression osmotique . . . . 189

*C*. Agents chimiques . . . . . . . . . . . . . . . 189

CONCLUSIONS . . . . . . . . . . . . . . . . . . . . 190

BIBLIOGRAPHIE . . . . . . . . . . . . . . . . . . . 191

L. ERRERA, *Sur la myriotonie comme unité dans les mesures osmotiques*. . . . . . . . . . . . . . . . . . 193

(*Bulletin de l'Académie royale de Belgique*, Classe des Sciences, 1901, n° 3.)

FR. VAN RYSSELBERGHE, *Influence de la température sur la perméabilité du protoplasme vivant pour l'eau et les substances dissoutes* (avec une planche et deux figures dans le texte) . . . . . . . . . . . . . . . 209

(*Bulletin de l'Académie royale de Belgique*, Classe des Sciences, 1901, n° 3.)

INTRODUCTION . . . . . . . . . . . . . . . . . . . . . 209

I. Perméabilité du protoplasme vivant à différentes températures . . . . . . . . . . . . . . . . . . . 215

§ 1. Perméabilité pour l'eau. . . . . . . . . . . . . . 215

*A*. Raccourcissement d'un tissu dans une solution plasmolysante. . . . . . . . . . 216

*B*. Allongement dans l'eau d'un tissu plasmolysé 220

*C* et *D*. Plasmolyse et « déplasmolyse » suivies au microscope. . . . . . . . . . . . . 223

TOME V.

Pages.

§ 2. Perméabilité pour les substances dissoutes . . . 229

II. Sur la nature (physiologique ou physique) des variations thermiques de la perméabilité du protoplasme . . . 232

III. La valeur de la pression osmotique cellulaire est indépendante de la constitution physique du protoplasme. . 235

§ 1. Le plus faible excès osmotique suffit à faire passer à travers le protoplasme l'eau et les substances pour lesquelles il est perméable. . . . . . . 236

*A*. Plasmolyse et « déplasmolyse » graduelles . 236

*B*. Courbure des tissus. . . . . . . . . . . . 241

§ 2. L'isotonisme d'une solution avec un suc cellulaire subsiste à toute température . . . . . . . . 244

CONCLUSIONS. . . . . . . . . . . . . . . . . . . . . . . . 245

BIBLIOGRAPHIE . . . . . . . . . . . . . . . . . . . . . . . 248

J. MASSART, *Recherches sur les organismes inférieurs. V. Sur le protoplasme des Schizophytes* (avec six planches en couleurs) . . . . . . . . . . . . . . . . . . . 251

(*Mémoires couronnés et autres mémoires* in-8°, Académie royale de Belgique, t. LXI, 1901.)

INTRODUCTION . . . . . . . . . . . . . . . . . . . . . . . 251

I. Observation des faits . . . . . . . . . . . . . . . . . . 253

*A*. Méthode . . . . . . . . . . . . . . . . . . . . . 253

*B*. Liste des organismes étudiés . . . . . . . . . . . 255

*C*. Schizomycètes. . . . . . . . . . . . . . . . . . 258

*D*. Schizophycées. . . . . . . . . . . . . . . . . . 261

§ 1. Structure des cellules végétatives adultes au repos. . . . . . . . . . . . . . . . . 261

§ 2. Structure des cellules en activité . . . . . 267

II. Interprétation des faits . . . . . . . . . . . . . . . . . 271

III. Sur la classification des organismes inférieurs. . . . . . 275

BIBLIOGRAPHIE . . . . . . . . . . . . . . . . . . . . . . . 280

Explication des planches . . . . . . . . . . . . . . . . . . 283

Pages.

J. STARKE, *De la prétendue existence de solanine dans les graines de Tabac* . . . . . . . . . . . . . . . . . . . . 295

(*Bulletin èe l'Académie royale de Belgique*, Classe des Sciences, 1901, n° 7.)

J. MASSART, *Essai de classification des réflexes non nerveux* . . . . . . . . . . . . . . . . . . . . . . . . . . 299

(*Annales de l'Institut Pasteur*, août 1901.)

Sommaire de ce travail . . . . . . . . . . . . . . . . . . . 299

L. ERRERA, *Sur une Bactérie de grandes dimensions :* Spirillum Colossus (avec six figures dans le texte). . 347

(*Bulletin de la Société royale des Sciences médicales et naturelles de Bruxelles*, décembre 1901.)

## ERRATUM

Page 223, ligne 6, au lieu de 0,01, lire 0,1.

# NATURE ET SIGNIFICATION
DES
# ALCALOÏDES VÉGÉTAUX

PAR

**G. CLAUTRIAU**
Assistant à l'Institut botanique.

## I (*)

### NATURE DES ALCALOÏDES.

La découverte de la morphine dans l'opium par Sertuerner, en 1816, vint démontrer, dans les tissus végétaux, l'existence de bases organiques que l'on s'était toujours refusé à y admettre jusqu'alors. Elle fut le point de départ des innombrables recherches qui se poursuivent encore actuellement et qui ont permis d'extraire des plantes un nombre déjà considérable d'alcaloïdes.

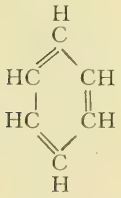
L'analyse chimique des premières bases isolées, entreprise par Dumas et Pelletier, avait montré que toutes renfermaient du carbone, de l'hydrogène, de l'oxygène et de l'azote. Mais l'étude de la nicotine, découverte en 1828, et celle de la conicine, trouvée trois ans plus tard, fit voir que l'oxygène n'était

---

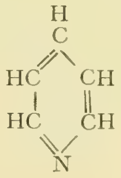
(*) Ce travail (Thèse de doctorat spécial de l'Université de Bruxelles) paraît simultanément ici et dans les *Annales de la Société royale des sciences médicales et naturelles de Bruxelles,* t. IX, 1900. Nous avons abrégé seulement dans ce *Recueil* certaines parties purement chimiques du § I.
G. C.

pas un élément indispensable dans la molécule des alcaloïdes et il en résulta un premier groupement des bases végétales en alcaloïdes oxygénés et en alcaloïdes non oxygénés.

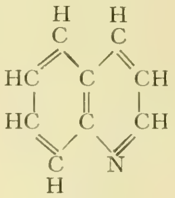
Pendant longtemps, leur structure moléculaire resta inconnue. Berzelius, Liebig et d'autres émirent diverses hypothèses pour expliquer leur nature alcaline, que l'on supposait avec raison devoir être rattachée au groupement azoté de la molécule ; mais ce ne fut qu'en 1880 qu'une véritable théorie vint jeter un jour complet sur la nature du noyau azoté de beaucoup d'alcaloïdes. Königs (1), à la suite de nombreux travaux sur les produits de décomposition des bases organiques, arriva à la conclusion que la plupart des alcaloïdes renfermaient dans leur molécule un groupement pyridique et il proposa de ne considérer comme véritables alcaloïdes que les substances azotées naturelles contenant un noyau de pyridine, de quinoléine, etc. Comparées à la benzine, ces substances peuvent être représentées par les formules suivantes :



Benzine.



Pyridine.



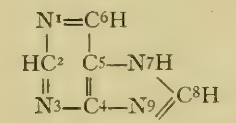
Quinoléine.

C'est grâce à cette conception de Königs que l'on put se rendre compte de la structure moléculaire des alcaloïdes et que la synthèse totale de la conicine, ou α-propylpipéridine, put être réalisée par Ladenburg.

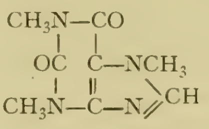
La définition des alcaloïdes proposée par Königs, très séduisante par sa grande simplicité, ne s'applique toutefois pas à toutes les substances que l'on considère, pour diverses raisons, comme des alcaloïdes véritables. C'est ainsi que toutes les bases de la série xanthique ne renferment aucun noyau pyridique. Nous savons aujourd'hui, à la suite des belles recherches de E. Fischer (1), que ces substances, parmi lesquelles se trouve la caféine, sont des dérivés d'un radical azoté particulier, à chaîne fermée, appelé par lui purine, $C_5N_4H_4$. La formule de la purine (dans laquelle Fischer donne pour plus de facilité un numéro d'ordre à chaque groupe) et celle de la caféine (triméthylxanthine ou 1.3.7-triméthyl—2.6-dioxypurine) s'écrivent de la façon suivante :

---

(1) Königs, *Studien über die Alkaloïde,* 1880.

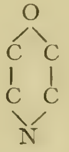


Purine.



Caféine ou 1.3.7-triméthyl—2.6-dioxypurine

Quant à la morphine, que l'on avait primitivement rattachée au phénanthrène et par suite aux dérivés pyridiques, elle semble, d'après les dernières recherches, avoir son azote engagé dans un noyau fermé particulier, auquel on a donné le nom d'oxazine.



Oxazine.

Dans ces différents noyaux : pyridine, purine, oxazine, l'azote fait toujours partie d'une chaîne fermée. En tenant compte de cette particularité et afin de conserver au mot alcaloïde un certain sens chimique, on pourrait être tenté d'élargir la définition proposée par Königs et d'appeler alcaloïdes toutes les bases naturelles dont l'azote se trouve engagé dans un noyau cyclique quelconque.

---

(1) Fischer, E., *Synthesen in der Puringruppe*. (Ber. d. d. chem. Gesellsch. Berlin, 1899, Bd XXII, p. 435.)

Malheureusement, cette définition serait trop étroite encore et écarterait des substances telles que la colchicine, dont la chaîne azotée est ouverte, et d'autres bases très répandues comme la choline, la bétaïne, la muscarine, qui sont des bases quaternaires du type de l'ammonium.

D'après tout ceci, il ne semble plus possible d'attribuer un sens chimique précis au terme alcaloïde et, selon nous, il serait préférable de lui accorder plutôt une signification physiologique. Car, d'après nos recherches, les alcaloïdes paraissent jouer partout dans la cellule vivante un rôle identique et dériver toujours de la destruction de substances organiques azotées plus complexes, en général de nature albuminoïde. Tous constituent donc des déchets végétaux, au sens que nous expliquerons plus loin.

En se basant sur ces considérations, les alcaloïdes devraient être définis comme des substances organiques azotées, à propriétés alcalines plus ou moins marquées, et résultant de la destruction des matériaux plastiques à l'intérieur de la cellule. Si nous considérons le métabolisme (1) comme l'ensemble des changements chimiques qui se passent à l'intérieur des cellules, on peut le subdiviser en anabolisme et en catabolisme, suivant qu'il a pour résultat d'édifier et d'emmagasiner la matière organique ou bien de la transformer et de la détruire comme source d'énergie. Dans notre pensée, les alcaloïdes proviennent du catabolisme, et il faut en distinguer nettement les substances organiques azotées qui servent au contraire à l'édification des matières protéiques, telles que, par exemple, l'asparagine.

Selon la complexité des molécules organiques dont ils dérivent, les alcaloïdes peuvent avoir leur azote engagé dans une chaîne soit ouverte, soit fermée, et la nature de ce groupement azoté servira de base à leur classification. Une première division s'établira ainsi en alcaloïdes aliphatiques ou à chaîne ouverte et en alcaloïdes cycliques. Ces derniers se subdiviseront ensuite d'après la nature de leur noyau azoté; et suivant qu'ils se rattachent à la pyridine, à la purine, à l'oxazine, etc., on les groupera en alcaloïdes pyridiques, alcaloïdes puriques, alcaloïdes oxaziniques, etc.

---

(1) L. Errera, *Sommaire du cours d'éléments de botanique*, Bruxelles, 1898, p. 111.

Quant aux alcaloïdes à chaîne ouverte ou aliphatiques, il faut y rattacher les bases quaternaires du type de l'ammonium, comme la choline, la muscarine, la bétaïne, dont on connaît encore très peu le rôle physiologique dans les plantes, maïs qui semblent pouvoir être assimilées sur ce point aux alcaloïdes cycliques; et il en est de même de la colchicine chez qui la nature du groupement azoté n'a pu être déterminée jusqu'à présent.

D'après des recherches de Lutz (1), les plantes n'utilisent directement ni la bétaïne ni les sels d'ammoniums composés, tandis qu'elles assimilent immédiatement les amines simples. Dans ces conditions, il serait intéressant de déterminer le mode de formation de la triméthylamine dans le *Chenopodium Vulvaria* et de voir si cette substance résulte de l'anabolisme ou du catabolisme, afin de décider si les composés végétaux à fonction amine doivent aussi être rangés parmi les alcaloïdes.

---

(1) LUTZ, *Recherches sur la nutrition des végétaux.* (ANN. DES SCIENCES NAT., BOTAN., 1898, [8], t. VII, p. 1.)

## II

## Distribution et localisation des alcaloïdes.

Existe-t-il un rapport quelconque entre la constitution chimique des alcaloïdes et la classification végétale généralement admise aujourd'hui? Déjà, avant que l'on ne connût, d'une façon exacte, la structure moléculaire d'aucune base organique, des essais de rapprochement, à ce point de vue, avaient été tentés; mais les insuccès complets auxquels on était arrivé furent surtout attribués au manque de notions chimiques précises, et de grandes espérances furent alors fondées sur les progrès de la chimie organique. On ne peut dire qu'elles se soient réalisées, même en partie, et néanmoins, divers auteurs semblent ne pas avoir encore complètement renoncé à cet espoir.

Cependant, d'après toutes les données chimiques acquises, un tel rapport n'existe pas et ne peut guère exister. Les recherches récentes ont considérablement élargi le sens du mot alcaloïde. Au lieu de le préciser, de le restreindre à un groupement chimique nettement défini, comme beaucoup l'espéraient, elles l'ont, au contraire, considérablement étendu, l'appliquant à des composés très variés et dispersant les bases végétales parmi les catégories de substances organiques azotées les plus diverses. De ce fait, actuellement, c'est moins sa structure moléculaire, c'est-à-dire le côté morphologique, qu'il faut envisager d'abord chez l'alcaloïde, que son rôle, sa signification dans la cellule vivante; et, selon nous, la fonction physiologique doit en être le caractère le plus essentiel.

Les alcaloïdes résultent du métabolisme de la cellule; considérés comme un déchet dans ce métabolisme, ils peuvent avoir des origines diverses et, par suite, se présenter sous les aspects chimiques très différents que nous leur connaissons.

Vouloir les faire intervenir dans la classification générale, serait aussi infructueux que de tenter un groupement naturel des plantes en tenant compte avant tout de l'hydrate de carbone qui s'y trouve, dextrose, saccharose, mannite, amidon, etc.

Le nombre des plantes chez lesquelles la présence d'alcaloïdes a été signalée, est déjà considérable. Toutefois, comparé à la totalité des espèces végétales, il reste assez restreint, et, dans ces conditions, on pourrait être tenté d'admettre que l'importance physiologique des bases organiques ne doive pas être trop exagérée. Mais il ne faut pas oublier que ces bases ont surtout été cherchées et trouvées, jusqu'à présent, chez les végétaux qui en renfermaient le plus et qui, pour cette raison, étaient d'un certain usage en thérapeutique. La plupart des autres plantes n'ont fait l'objet d'aucune recherche spéciale; ou bien ces recherches sont restées sans résultats, soit que les alcaloïdes en fussent bien réellement absents, soit qu'ils s'y trouvassent en quantités trop faibles, soit que les méthodes employées fussent peu favorables à leur extraction.

Ces diverses considérations sont d'une grande importance. La plupart des méthodes dont se servent les chimistes pour rechercher les alcaloïdes ne conviennent, en général, qu'à l'extraction et à la caractérisation des bases pyridiques. Celles-ci ont un noyau central très stable, qui conserve une grande prépondérance dans la molécule et qui leur communique certains caractères communs : mêmes dissolvants, précipitations par divers réactifs, etc. Mais il n'en est pas de même avec tous les groupes d'alcaloïdes, et déjà, dans le groupe de la purine, aussi homogène au point de vue chimique que celui de la pyridine, le noyau n'a plus la même prépondérance, et il n'existe pas de caractères communs à tous les dérivés, qui ne pourront plus être séparés en bloc d'un mélange complexe et dont chacun nécessitera une méthode d'extraction plus ou moins modifiée, plus ou moins spéciale.

Et comme il en sera de même pour les autres groupes d'alcaloïdes, les résultats négatifs dans leur recherche ne devront être acceptés qu'avec la plus grande circonspection, d'autant plus qu'il peut se faire qu'ils n'existent chez une plante qu'en très minime quantité. Car le fait de former des alcaloïdes n'implique pas pour la plante une nécessité de les accumuler, de les emmagasiner en des cellules déterminées. C'est là un phénomène ultérieur, particulier à certaines espèces qui en tirent un profit spécial au point de vue éthologique ; tandis qu'au point de vue physiologique, le fait important est la présence de l'alcaloïde, non pas quantitative, mais bien qualitative.

Dans cet ordre d'idées, de nombreuses analyses sont à entreprendre en opérant sur des matériaux abondants et surtout en tenant compte des différentes catégories des bases végétales qui peuvent exister et nécessiter des méthodes d'extraction très diverses, ainsi que nous venons de le montrer.

Quel que soit le résultat de ces recherches nouvelles, nous pouvons déjà, en réunissant les données actuellement acquises, constater l'existence des alcaloïdes dans la plupart des groupes du règne végétal.

Chez les Thallophytes, où se rencontrent les modalités les plus diverses de nutrition autotrophe et allotrophe, où se trouve la plus grande variété de chromophylles, et où, par suite, il semble que l'on puisse espérer isoler une grande variété d'alcaloïdes, leur existence, leur répartition sont encore peu connues. Cela provient, d'une part, de ce que le plus grand nombre de ces organismes sont assez petits, toujours peu différenciés et ont une existence aquatique qui leur permet, peut-être, d'excréter avec facilité, dans le milieu ambiant, leurs déchets azotés, à mesure de leur production. Il est difficile, d'autre part, de les réunir en quantité suffisante pour un examen chimique approfondi et, en outre, leur culture en masse et en milieu artificiel n'est que rarement possible, à part, toutefois, celle des Bactéries et de certains Champignons.

Les Myxomycètes, dont le métabolisme se rapproche à beaucoup d'égards de celui des Champignons, n'ont pas été l'objet de recherches précises au point de vue de la présence des alcaloïdes. De même, le chimisme des Flagellates, organismes tous très petits et aquatiques, est très imparfaitement connu. Il est probable que chez les Myxomycètes on rencontrera les bases de la série xanthique, et il serait intéressant de rechercher si aucun d'eux ne renferme de principe actif du groupe de la choline et voisin de la muscarine que l'on trouve chez des Champignons.

Parmi les Algues existe une classe qui a été l'objet d'études nombreuses et très complètes de la part de beaucoup de chimistes : c'est la classe des Schizomycètes ou Bactéries. Ici, grâce surtout aux travaux de Panum, Gautier, Nencki, Brieger, etc., des substances azotées très nombreuses et très variées ont été découvertes. Mais jusqu'à quel point toutes les substances trouvées sont-elles le résultat immédiat et direct de la cellule bactérienne? La question n'est pas résolue, car sous le nom de *ptomaïnes,* on a décrit un très grand nombre de composés, toxiques ou non, qui se forment au cours de la destruction des matières organiques complexes par les Bactéries.

Le plus généralement, il semble bien que la ptomaïne n'a pas dû être édifiée par le microbe lui-même; elle n'est que le résultat du morcellement, de l'écroulement moléculaire des substances protéiques végétales ou animales, sous l'influence des zymases sécrétées par le microbe. Ce fait est d'ailleurs reconnu implicitement par les principaux auteurs qui se sont occupés de la recherche des ptomaïnes. Gautier (1), dans sa liste des principales ptomaïnes, de même que Brieger (2), ne classent pas les corps qu'ils ont isolés comme des produits d'espèces bactériennes bien déterminées, mais seulement d'après la substance organique soumise à la putréfaction : albumines, gélatines, chairs de mammifères, de poissons, de poulpes, levures de bière, urines, etc., et d'après le temps pendant lequel les microbes ont pu agir.

---

(1) A. Gautier, *Les toxines microbiennes et animales.* Paris, 1896, p. 78.

(2) Brieger, *Microbes, ptomaïnes et maladies.* Traduction française. Paris, 1887.

Il y a donc tout lieu de supposer que le groupement moléculaire de la plupart des ptomaïnes préexistait dans le complexe organique soumis à l'action des Bactéries, et que celles-ci n'ont fait généralement que scinder les molécules protéiques en fragments divers, les uns directement assimilables, les autres, au contraire, peu assimilables pour elles, et parmi lesquels se trouvent les ptomaïnes. A mesure que la putréfaction progresse, celles-ci changent de nature et finissent même par disparaître entièrement. Ce fait n'a rien de surprenant. Dans ces putréfactions entre en jeu toute une flore bactérienne, dont les diverses espèces ont des propriétés et des besoins différents. Leurs exigences et leurs aptitudes n'étant pas les mêmes, elles se succèdent suivant ces exigences et ces aptitudes, pour provoquer des désagrégations de plus en plus complètes de la substance mise à putréfier. Les résidus alcaloïdiques laissés par certains microbes ne résistent pas à l'action d'autres ; et finalement, le milieu, d'abord toxique, cesse de l'être, de même que, très riche, au début, en matières protéiques, il arrive à ne plus contenir que des composés ammoniacaux. Il serait intéressant de vérifier si une Bactérie bien déterminée, qui, en présence d'albumine, donne naissance à une grande quantité d'une ptomaïne, serait encore capable de la produire dans un milieu nutritif favorable à l'organisme, mais qui ne renfermerait que des substances à molécules très simples.

Parmi les produits qui résultent de la putréfaction, se rencontrent des corps appartenant aux différents groupes d'alcaloïdes connus. Les uns sont à chaîne ouverte se rapprochant des amines simples ou composées ; d'autres font partie de la série de la choline ; d'autres enfin, à chaîne fermée, peuvent être de nature pyridique, xanthique, etc. ; de sorte que, chez les Schizomycètes, toutes les formes d'alcaloïdes peuvent se rencontrer et, à ce point de vue, ils se distinguent donc des autres Thallophytes et même de toutes les Cryptogames, chez lesquelles on n'a pas encore signalé l'existence d'un seul alcaloïde pyridique, et où les alcaloïdes, extraits jusqu'à présent, rentrent dans les groupes de la xanthine, de la choline ou des amines. Mais, d'après ce que nous venons de dire, cette différence chimique si profonde serait plutôt apparente que réelle et pourrait provenir uniquement du saprophytisme particulier de ces micro-organismes.

Aux ptomaïnes résultant des actions microbiennes, on rattache fréquemment les toxines. Rien ne prouve qu'elles aient la même origine. Leur nature chimique est encore très mal connue, mais leurs réactions semblent plutôt les rapprocher des matières albuminoïdes, en particulier des albumoses, ou bien encore des zymases. D'après cela, il y a tout lieu d'admettre qu'elles doivent être classées plutôt à la suite des substances protéiques et des zymases que parmi les alcaloïdes.

Les Algues proprement dites, les Phéophycées et les Rhodophycées, ont été peu étudiées au point de vue qui nous intéresse ici. Jusqu'à présent, aucun alcaloïde n'a été signalé chez elles et n'a, d'ailleurs, jamais fait l'objet d'une recherche approfondie.

Les Champignons, au contraire, ont fourni un certain nombre de produits alcaloïdiques. Les empoisonnements multiples qu'ils ont occasionnés, ont attiré naturellement l'attention des chimistes et provoqué des analyses assez nombreuses. De ces recherches, il résulte que la plupart des substances toxiques azotées qu'ils contiennent appartiennent, au point de vue chimique, aux composés de la série grasse : ce sont donc presque toujours des alcaloïdes aliphatiques, principalement du groupe de la choline et dont le plus connu est la muscarine. Des composés de la série xanthique existent aussi chez eux; mais il est intéressant de constater que les Champignons n'ont encore fourni aucun alcaloïde pyridique. Il serait prématuré d'affirmer dès maintenant leur absence complète; car la structure chimique de plusieurs principes actifs azotés de divers Champignons, et surtout des alcaloïdes du *Claviceps purpurea*, – ergotine, ergotinine, etc., — n'a pas encore été exactement déterminée.

Cette absence de bases pyridiques semble aussi se constater dans les deux embranchements suivants : les Bryophytes et les Ptéridophytes. Le premier surtout a été peu étudié. Dans le second, on a bien signalé chez quelques espèces, principalement parmi les Equisétinées et les Lycopodinées, la présence de composés azotés toxiques, mais dont la nature chimique est encore inconnue.

Dans l'embranchement des Phanérogames, les groupes les plus inférieurs, c'est-à-dire les diverses classes des Gymnospermes, paraissent également privés d'alcaloïdes pyridiques. La taxine, extraite du *Taxus baccata*, dont les propriétés vénéneuses et la nature azotée ont été nettement établies depuis longtemps, demande des recherches chimiques plus complètes permettant de connaître enfin sa structure moléculaire, laquelle ne semble pas se rattacher à la pyridine. Les *Ephedra* renferment des alcaloïdes qui possèdent un noyau aromatique benzoïque et qui fournissent de la méthylamine à la distillation sèche. Cette facilité avec laquelle l'azote est dégagé sous forme de méthylamine, laisse supposer que cet élément ne doit pas être engagé dans une chaîne fermée

Des substances de la série xanthique ont été retrouvées dans le pollen du *Pinus*, parmi lesquelles la xanthine, l'hypoxanthine et la guanine.

A partir des Angiospermes, la présence des alcaloïdes divers est plus fréquemment signalée. Nombreuses, ici, sont les espèces qui ont été soumises à l'analyse chimique, principalement toutes celles préconisées en thérapeutique, et nombreuses aussi sont les bases végétales qui en ont été isolées. Mais alors que l'existence des dérivés de la série pyridique est encore problématique dans les embranchements inférieurs du règne végétal, ce sont eux, au contraire, qui prennent la prépondérance dans l'embranchement supérieur. On les rencontre aussi bien chez les Monocotylédones que chez les Dicotylédones, quoique plus abondants chez ces dernières.

Parmi les divers ordres des Monocotylédones, il en est quelques-uns où l'on n'a encore signalé aucun alcaloïde pyridique, mais il est possible que des recherches ultérieures en amènent la découverte. Il y a quelques années, l'immense famille des Orchidacées était considérée comme ne possédant pas d'alcaloïde; des recherches microchimiques (1), corroborées ensuite par une extraction chimique, ont montré que des alcaloïdes existent chez plusieurs espèces. Par contre, les Scitaminées et les Glumiflorinées, si nombreuses, n'ont fourni, jusqu'à présent, aucun alcaloïde pyridique; mais des corps de la série xanthique existent fréquemment dans les graines des céréales en voie de germination, d'après les importants travaux de E. Schulze (2) et de ses élèves.

Les nombreux ordres des Dicotylédones offrent également entre eux des différences considérables. Parfois très riches en plantes à alcaloïdes, ils peuvent aussi n'en renfermer qu'un nombre très restreint ou même en être privés. Dans un même ordre, comme par exemple celui des Rhœadinées, nous trouvons côte à côte deux familles très importantes : les Papavéracées et les Cruciféracées, dont la première a toutes ses espèces riches en alcaloïdes, tandis que la seconde ne fournit aucune base végétale. Proche des Papavéracées, parmi les Choripétales, nous voyons la grande famille des Renonculacées où les espèces à alcaloïdes abondent également. Mais en montant dans la série, nous trouvons alors d'importantes familles comme les Malvacées, les Géraniacées, qui n'en renferment pas, accompagnées cependant d'autres familles où ils ont été signalés: Sterculiacées, Erythroxylacées, Rutacées, Sapindacées, etc. Les alcaloïdes sont également peu répandus parmi les Rosinées; ils redeviennent plus fréquents chez les Légumineuses et ils existent aussi chez quelques Ombellinées.

---

(1) DE DROOG, *Contribution à l'étude de la localisation microchimique des alcaloïdes dans la famille des Orchidacées.* (MÉMOIRES IN-8° DE L'ACAD. ROY. DE BELGIQUE, 1896, t. LIII, ou RECUEIL DE L'INSTITUT BOTANIQUE DE BRUXELLES, t. II.)

(2) Il serait trop long de donner la liste détaillée des nombreux travaux de Schulze qui ont été publiés depuis plus de vingt ans dans diverses revues allemandes.

Les Gamopétales possèdent des familles très riches en alcaloïdes, telles que les Solanacées (1), les Loganiacées, les Rubiacées, les Apocynacées. Les Labiacées, que l'on disait privées de bases organiques, ont fourni la stachydrine extraite du *Stachys tuberifera* Bunge, et quant à la famille la plus différenciée, celle des Compositacées, un certain nombre d'espèces à alcaloïdes y ont été mentionnées : *Senecio vulgaris* L., *Chrysanthemum cinerariæfolium* Vis., *Achillea Millefolium* L., et *A. moschata* Jacq.

En résumé, il ressort de ce rapide aperçu que les alcaloïdes ont été signalés dans tous les embranchements du règne végétal, et tout porte à croire, comme nous le discuterons à la fin de ce travail, qu'aucune espèce végétale n'en est réellement privée. Toutefois, en ce qui concerne les diverses formes de bases végétales, une certaine différence se manifeste entre elles : les unes, comme les bases de la purine, paraissent se retrouver partout, tandis que les bases pyridiques semblent plutôt appartenir à l'embranchement supérieur des végétaux, en particulier aux Angiospermes, et c'est surtout parmi les Dicotylédones, c'est-à-dire les plantes les plus différenciées, qu'on les rencontre en plus grand nombre et en plus forte proportion. Nous y trouvons des familles entières, dont tous les représentants, ou presque tous, renferment des alcaloïdes, comme les Papavéracées et les Solanacées.

A quoi tient cette différence? Y a-t-il là une activité fonctionnelle distincte? Les cellules des plantes supérieures ont-elles un chimisme particulier? Nous ne le pensons pas, et nous sommes d'avis que la distinction qui existe au sujet des alcaloïdes entre les Phanérogames et les autres groupes du règne végétal, provient surtout de la haute différenciation des premières. Nous y rencontrons des tissus variés, indices de fonctions très diverses, qui permettent une division du travail cellulaire et, par suite, une activité plus grande, laquelle sera aussi moins enrayée par les produits d'assimilation et de désassimilation, puisque ceux-ci, à mesure de leur production, pourront être transportés ailleurs et aller s'accumuler en de certains tissus, en des cellules spéciales. Chez les Thallophytes, où toutes les cellules du thalle, très variées de forme, ont néanmoins à peu près la même valeur morphologique, où n'existent pas de vrais tissus d'emmagasinement, on conçoit très bien que les alcaloïdes, si on les considère comme des déchets enrayant l'activité cellulaire, ne pourront jamais s'accumuler. Leur présence en quantité un peu forte troublerait l'économie de la cellule, et celle-ci doit s'en débarrasser. Pour cela, la plante, dépourvue d'organes de sécrétion, ne peut agir que de deux manières, ou bien, chez les formes aquatiques, en laissant diffuser dans le milieu ambiant ces produits plus ou moins solubles — ce qui pourrait être une explication de la présence des ptomaïnes dans les cultures des Schizophytes — ou bien en oxydant, en détruisant ultérieurement ces déchets, dont l'existence dans la cellule serait ainsi très passagère. Par suite de cette destruction plus ou moins rapide, une accumulation des produits alcaloïdiques est empêchée; et quoique ceux-ci se forment en réalité, l'analyse macrochimique ne peut espérer arriver à les déceler qu'en opérant avec d'excessives précautions et sur des quantités de matériaux considérables.

---

(1) Molle, *Recherches de microchimie comparée sur la localisation des alcaloïdes dans les Solanacées.* (Mémoires in-8° de l'Acad. roy. des sciences de Belgique, 1896, t. LIII, ou Recueil de l'Institut botanique de Bruxelles, t. II.)

Chez les Phanérogames, un phénomène secondaire intervient, grâce à la différenciation morphologique. Transportés, relégués dans certains tissus, ces produits de désassimilation deviennent moins gênants et ne troublent plus l'économie de la cellule assimilatrice. Le fonctionnement cellulaire peut se continuer sans attendre l'oxydation, la destruction complète de ces substances; et leur accumulation ira en augmentant pendant toute la période d'activité vitale de la plante et représentera, non une réserve d'énergie, mais le plus souvent un excellent moyen de protection, sur lequel nous reviendrons ultérieurement et qu'indiquent bien la plupart des localisations observées.

L'analyse chimique proprement dite, qui permet d'extraire et de caractériser les diverses substances contenues dans un végétal ou dans une partie de celui-ci, est impuissante à nous renseigner dans quels tissus, dans quelles cellules et surtout dans quelles parties des cellules et sous quelle forme, l'alcaloïde se trouve déposé. Cette question présente cependant une importance capitale au point de vue de la physiologie végétale. En effet, il est d'une grande utilité de connaître, aux diverses périodes de végétation, les localisations exactes des corps dont on veut déterminer la signification physiologique. De là est résultée la nécessité de rechercher et de caractériser l'alcaloïde, au microscope, dans la cellule même qui le contient.

Depuis plus de quinze ans, de nombreuses recherches microchimiques ont été entreprises dans cet ordre d'idées, améliorant beaucoup la technique et permettant de déterminer avec certitude la localisation de tous les alcaloïdes qui précipitent par un certain nombre des réactifs généraux, c'est-à-dire, essentiellement, ceux de la série pyridique.

La recherche microchimique des alcaloïdes doit se faire de préférence sur des matériaux frais, vivants; et ceux-ci sont indispensables si l'on veut déterminer exactement les localisations (1). Car, ainsi que le dit également Molisch (2), dès que la cellule meurt, les localisations cessent plus ou moins complètement; le cytoplasme devient perméable à toutes les substances en dissolution, et les produits primitivement dissous dans le suc cellulaire peuvent diffuser peu à peu, imprégnant à la fois le protoplasme et les membranes. On pourra encore déceler l'alcaloïde microchimiquement dans la plupart des cas, mais il sera impossible de tirer aucune conclusion des localisations observées. C'est en opérant sur des matériaux non vivants qu'on a cru trouver de l'alcaloïde imprégnant les membranes, comme Otto Lindt (1) l'a signalé pour la brucine dans les graines de *Strychnos Nux-vomica*. De même, en examinant des graines d'*Aconitum Napellus*, arrivées à leur complète maturité et desséchées, j'avais été porté à admettre une accumulation d'alcaloïde dans une sorte de membrane épaisse entourant l'albumen. En examinant ultérieurement des graines fraîches au cours de leur développement, j'ai pu constater que cette sorte de membrane était le reste d'une assise cellulaire sous-tégumentaire qui, à la maturité, se vide de tout son contenu, sauf des alcaloïdes, et qui est alors fortement comprimée et aplatie sur l'albumen par le tégument en voie de dessiccation.

---

(1) Errera, Maistriau et Clautriau, *Premières recherches sur la localisation et la signification des alcaloïdes dans les plantes.* (Journ. de la Soc. roy. des sc. méd et nat. de Bruxelles, 1887, p. 6 du tiré à part, ou Recueil de l'Institut botanique de Bruxelles, t. II.)

(2) H. Molisch, *Grundriss einer Histochemie der pflanzlichen Genussmittel.* Iéna, 1891, p. 2.

Les réactifs à employer pour rechercher et caractériser les alcaloïdes sont assez nombreux, mais celui auquel on doit avoir recours en tout premier lieu dans les recherches préliminaires est, sans contredit, l'iodure de potassium iodé. Il présente de multiples avantages que reconnaissent les divers auteurs qui se sont occupés des localisations d'alcaloïdes. Un seul auteur fait quelques réserves sur les avantages de ce réactif. Barth (2) n'admet pas qu'il soit le « réactif par excellence ». Il trouve que les réactions obtenues ne sont pas décisives, et rappelle que d'autres substances sont également précipitées ou colorées par lui. Il ajoute que la coloration bleue de l'amidon ne permet pas de voir nettement le précipité brun d'alcaloïde et que, dans les tissus assimilateurs, les grains de chlorophylle, les plasmas et les grains d'aleurone, peuvent, par leur coloration brune, amener des confusions. Il signale en même temps que l'iodure de potassium iodé en solution neutre ne précipite pas certains alcaloïdes, tels que la colchicine, mais il reconnaît toutefois que ce fait est sans importance ici, puisque le suc cellulaire qui contient les alcaloïdes est toujours acide. Barth ne dit pas que tous les autres réactifs recommandés et dont il se sert doivent encourir des reproches analogues et même beaucoup plus graves, et qu'aucun n'a la propriété de précipiter uniquement les alcaloïdes.

---

(1) OTTO LINDT, *Ueber den mikrochemischen Nachweis von Brucin und Strychnin*. (ZEITSCHR. F. WISS. MIKROSK., 1884, Bd I, p. 287.)

(2) BARTH, *Studien über den mikrochemischen Nachweis von Alkaloiden in pharmaceutisch verwendeten Drogen*. (BOTAN. CENTRALBL., 1898, Bd LXXV, nº 8, p. 225.)

Malgré ces critiques, nous persistons à considérer l'iodure de potassium iodé comme le meilleur réactif microchimique. Aucun autre ne permet de différencier avec la même facilité autant d'éléments divers dans la cellule et de s'orienter parmi les tissus. Il est vrai qu'au début ces nombreux détails indiqués par l'iode peuvent embarrasser ; un œil non encore suffisamment exercé éprouvera peut-être une certaine difficulté à distinguer les différences d'aspect et de teinte des précipités et à les reconnaître au milieu des divers éléments figurés de la cellule, également colorés par l'iode. Mais ces difficultés seront rapidement surmontées, et nous avons eu soin de les signaler dès nos premières recherches sur les alcaloïdes (1).

L'emploi de l'iodure de potassium iodé ne suffit pas, à lui seul, à caractériser les alcaloïdes. Il faut avoir recours en même temps à une série d'autres réactifs qui les précipitent plus ou moins facilement, et parmi lesquels nous citerons surtout : l'iodure double de mercure et de potassium, l'acide phosphomolybdique, l'acide phosphotungstique, l'iodure double de bismuth et de potassium, l'iodure double de cadmium et de potassium, l'acide picrique, l'acide tannique, le bichlorure de mercure, le chlorure de platine, le chlorure d'or, d'autres sels encore, utiles dans des cas spéciaux, ainsi que les solutions des alcalis caustiques ou des carbonates alcalins.

---

(1) Errera, Maistriau et Clautriau, *loc. cit.*, pp. 6, 7 et 8.

Tous ces corps donnent des précipités avec la plupart des alcaloïdes; mais d'autres réactifs ont la propriété de fournir parfois avec eux des colorations très caractéristiques, qui peuvent être fort utiles en microchimie, encore que quelques-unes, qui exigent que l'alcaloïde soit à l'état de pureté, ne s'obtiennent pas sur les coupes microscopiques. Ces réactifs colorants sont généralement à base d'acides très concentrés. Ce peuvent être les acides chlorhydrique, azotique, sulfurique, etc., concentrés. Ou bien ils sont constitués par de l'acide sulfurique concentré additionné d'un peu d'acide azotique (réactif d'Erdmann), de molybdate d'ammonium (réactif de Fröhde), d'acide vanadique (réactif de Mandelin), de saccharose (réactif de Raspail), de sélénite de sodium (réactif de Brandt), de sulfate de cérium, d'acide sélénique, d'acide titanique, d'acide tungstique, de résorcine, de méthylal ou de formaldéhyde, d'aldéhyde salicylique, de bichromate de potassium, etc.

Une méthode qui peut donner de bons résultats en microchimie est celle proposée par Barth (1), et qui consiste à faire agir l'iode ou le brome à l'état de vapeurs sur les coupes dans lesquelles on recherche des alcaloïdes. .

Enfin, avant de conclure définitivement à la présence d'un alcaloïde, il est toujours indispensable d'examiner comparativement, comme le recommande Errera (2), des coupes fraîches et d'autres qui ont préalablement séjourné une ou plusieurs heures dans de l'alcool absolu contenant 5 °/₀ d'acide tartrique. Cette macération enlève aux coupes tout leur alcaloïde, et dans ce cas, on ne doit plus obtenir aucune réaction.

---

(1) BARTH, H., *loc. cit*, p. 266.

(2) ERRERA, *Sur la distinction microchimique des alcaloïdes et des matières protéiques.* (ANN. DE LA SOC. BELGE DE MICROSCOPIE, 1889, t. XIII, p. 73, ou RECUEIL DE L'INSTITUT BOTANIQUE DE BRUXELLES, t II )

Les résultats positifs obtenus à l'aide de ces réactifs et de ces méthodes permettent de conclure à la présence certaine d'un alcaloïde; mais lorsque la recherche a été négative, peut-on en tirer toujours une conclusion analogue? Évidemment non, surtout depuis que la notion du mot alcaloïde s'est élargie et s'étend à des composés chimiques aussi divers que l'atropine, la caféine, la choline ou la muscarine. Les réactifs que nous avons énumérés plus haut s'appliquent surtout aux dérivés pyridiques et à quelques autres alcaloïdes, mais il est un certain nombre de bases organiques qui ne sont pas précipitées par eux. Beaucoup de dérivés puriques sont dans ce cas; et nous verrons au chapitre suivant que la caféine, dont nous nous occuperons plus spécialement, ne possède guère de bonnes réactions chimiques permettant de la caractériser dans les cellules mêmes. De nouvelles et patientes recherches sont à entreprendre sur ce point. Elles présentent un grand intérêt, car nous ne savons pas exactement si, comme permettent de le supposer les analyses faites jusqu'à présent, tous les alcaloïdes se localisent à peu près de la même façon que les bases pyridiques.

Pour celles-ci, la question est maintenant bien élucidée. Nous connaissons les diverses parties de la plante où elles tendent à se localiser plus spécialement et vers lesquelles il faut surtout porter l'attention dans les recherches microchimiques des alcaloïdes. Ce sera d'abord au voisinage des points végétatifs de la racine et de la tige, là, par conséquent, où se manifeste une grande activité cellulaire. Dans la jeune racine surtout, les réactions sont souvent très intenses, non pas, en général, au point végétatif lui-même, dans la zone en voie de division cellulaire, mais bien dans la région qui suit immédiatement celle-ci, avant que commencent à s'ébaucher les premiers rudiments des faisceaux.

Au point végétatif de la tige, la localisation est souvent plus diffuse. Parfois toutes les cellules donnent des réactions intenses; d'autres fois il se manifeste dès le début une accumulation vers la périphérie; ou bien encore on pourra observer une localisation très nette dans le voisinage des très jeunes faisceaux qui commencent à se différencier.

Au delà des points végétatifs, dans la racine et dans la tige, les alcaloïdes tendent à se concentrer vers les faisceaux, en partie à la périphérie de ceux-ci au voisinage du péricycle, en partie à l'intérieur, dans certains éléments du liber; mais il est à remarquer qu'on ne les observe pas dans les tubes criblés qui sont cependant les grandes canalisations des matériaux plastiques. On les trouvera surtout dans des rangées de cellules très longues et minces, ou formées d'éléments plus courts et plus larges, contenant en même temps des cristaux d'oxalate de chaux (*Narcissus*). Dans certaines plantes, les alcaloïdes et les cristaux d'oxalate de chaux se trouvent dans des cellules distinctes (*Cinchona*).

Lorsque la plante renferme des vaisseaux laticifères, ceux-ci deviennent toujours les grands collecteurs des alcaloïdes, comme on le voit très nettement chez les Papavéracées, où le latex donne les réactions les plus intenses.

Si nous considérons les parties assimilatrices de la plante, et, en particulier, la feuille, nous y retrouverons l'alcaloïde dans les éléments du faisceau que nous avons signalés plus haut; mais, de plus, ici, ainsi que dans le parenchyme assimilateur des jeunes tiges, les bases azotées pourront souvent être décelées dans la plupart des cellules vertes. Parfois les réactions microchimiques y seront assez nettes; mais c'est toujours dans ces tissus verts que la recherche des alcaloïdes présente le plus de difficultés, et d'autant plus qu'ils ne s'y accumulent jamais. Ils ne s'y trouvent qu'en proportion relativement minime et semblent quitter rapidement ces cellules pour affluer surtout vers la périphérie, dans la couche épidermique, où généralement les réactions sont intenses et s'obtiennent avec la plus grande facilité.

Cette localisation dans les cellules épidermiques est la plus générale parmi toutes les plantes à alcaloïdes, et cependant elle peut ne pas exister. Dans les *Cinchona,* très bien étudiés par Lotsy (1), les cellules épidermiques ne donnent aucune réaction et les bases organiques se trouvent localisées dans une assise spéciale située immédiatement sous l'épiderme et formée de grandes cellules dans lesquelles les réactions des alcaloïdes sont excessivement intenses.

Beaucoup de feuilles et de jeunes tiges portent des poils. Très souvent ceux-ci contiennent de l'alcaloïde en abondance, principalement dans leurs cellules basilaires. Les cellules épidermiques, sur lesquelles s'insèrent ces poils, présentent souvent des réactions plus marquées que les autres cellules de l'épiderme. Il existe aussi une différence entre les deux faces de la feuille : l'épiderme inférieur est d'ordinaire plus riche en alcaloïde que l'épiderme supérieur.

Les fleurs, comme les feuilles, peuvent contenir des alcaloïdes que l'on trouvera plus ou moins abondants dans les cellules épidermiques des sépales et des pétales, ainsi qu'au voisinage des faisceaux. Dans l'androcée et le gynécée, cette dernière localisation se constate fréquemment. Les grains de pollen, au contraire, semblent généralement privés de bases pyridiques; mais d'autres alcaloïdes peuvent y exister, puisque l'on a signalé des dérivés de la purine dans le pollen des *Pinus.*

En ce qui concerne les graines des plantes à alcaloïdes, j'ai déjà indiqué, dans un travail antérieur (2), la variété des localisations que l'on peut y observer. Les graines très petites sont privées d'alcaloïdes (*Nicotiana, Papaver*). Lorsque ceux-ci existent dans les graines plus volumineuses, ils peuvent ne se trouver que dans les parties externes, tégumentaires, riches en matériaux nutritifs durant le développement de l'ovule, et qui, à la maturité, se vident de leur contenu, sauf des alcaloïdes, et se dessèchent (*Datura, Atropa*). Dans les graines de *Conium,* une assise spéciale, sous-tégumentaire, contient tout l'alcaloïde ; tandis que chez le *Delphinium,* il est réparti dans tout l'albumen avec une tendance à prédominer vers la périphérie, l'embryon en étant privé ; et chez les *Strychnos*, il s'observe dans l'embryon aussi bien que dans l'albumen.

---

(1) Lotsy, *De Localisatie van het alcaloid in Cinchona Calisaya Ledgeriana en in C. succirubra.* (Mededeelingen van de Laboratoria der Gouvernement's Kinaonderneming, n° I. Batavia, 1898.)

(2) Clautriau, *Localisation et signification des alcaloïdes dans quelques graines.* (Ann. Soc. belge de microsc., 1894, t. XVIII, p. 35, ou Recueil de l'Institut botanique de Bruxelles, t. II.)

Une accumulation d'alcaloïde se manifeste souvent dans certains organes qui se renflent fortement et se remplissent de réserves, comme, par exemple, les racines d'*Aconitum* ou de certains *Papaver* vivaces. Leur présence dans ces organes riches en matériaux nutritifs et dans les graines, a été maintes fois invoquée comme argument en faveur d'une fonction nutritive; mais elle peut aussi bien servir d'argument en faveur d'un rôle de protection, car la plante a le plus grand intérêt à protéger ces dépôts de réserves. De même, il est très compréhensible que l'alcaloïde s'accumule dans une écorce pour la mettre à l'abri de la voracité de certains animaux ; et il est impossible de considérer comme aliment pour la plante l'énorme quantité de quinine et de cinchonine déposée dans l'écorce des *Cinchona* et qui ne peut plus être reprise ultérieurement.

## III

### Recherches sur la caféine.

*Historique.* — Contrairement à la plupart des alcaloïdes végétaux qui, généralement, n'appartiennent qu'à un genre déterminé, parfois même à une seule espèce, la caféine se rencontre dans un certain nombre de plantes provenant de familles très différentes. Par suite, il est probable que des recherches ultérieures permettront de la découvrir dans d'autres espèces encore où sa proportion en quantité plus faible n'a pas attiré l'attention jusqu'à présent. Il est remarquable que les principaux végétaux contenant de la caféine aient été connus et employés par l'homme dès la plus haute antiquité, soit comme médicaments, soit sous forme de boissons, et aussi bien dans l'ancien que dans le nouveau continent.

Néanmoins, la découverte du principe actif de la caféine ne date que du commencement de ce siècle, et elle fut une conséquence de l'importante découverte de Sertuerner. En 1820, Runge (1) parvint à l'isoler du café *(Coffea arabica)* et lui donna le nom de *Koffein*.

Les recherches de Runge semblent être restées longtemps ignorées des chimistes français. En effet, trois ans plus tard, Dumas et Pelletier (2), dans leur travail sur la composition des bases organiques alors connues, disaient que « aucun » mémoire n'a encore paru sur la caféine, qui a été décou- » verte en 1821 par M. Robiquet, en cherchant la quinine

---

(1) Runge, *Schweigger's Journal für Chemie und Physik*, 1820, Bd XXXI, p. 308, et *Mater. z. Phytologie*, 1821, Bd I, p. 146.

(2) Dumas et Pelletier, *loc. cit.*

» dans le café, parce que cette plante est de la même famille » que le Quinquina et qu'on lui a reconnu des propriétés fébri- » fuges ». Vers la même époque que Robiquet (1), Pelletier et Caventou avaient également isolé le principe actif du café, entrevu par Seguin (2) en 1814, mais leurs recherches ne furent pas publiées. Dans un travail paru en 1826, Pelletier (3) attribue encore la découverte de la caféine à Robiquet et rappelle en même temps sa forte teneur en azote, qui en fait « la substance végétale la plus azotée connue. Elle l'est » plus que beaucoup de matières animales. Cependant, en » aucun cas, elle ne subit la fermentation putride, ce qui » semble indiquer que la différence qui existe entre les » matières végétales azotées et les substances animales et, » par suite la propriété de se putréfier que présentent plus » particulièrement ces dernières, ne dépendent pas de la plus » grande quantité d'azote, mais d'un arrangement particulier » dans les molécules... »

Sous le nom de théine, la caféine fut extraite des feuilles de thé, en 1827, par Oudry (4). Elle fut ensuite décrite par Günther (5); mais ce ne fut que onze ans plus tard que l'identité de la théine et de la caféine fut reconnue définitivement. Au commencement de 1838, Jobst (6) publia le résultat de ses recherches sur la composition de la théine qu'il avait extraite du thé et soigneusement purifiée, ainsi que le prouvent les caractères de sa substance, et déclara le premier que *caféine* et *théine* étaient une seule et même substance.

---

(1) Robiquet, en 1821, avait lu à la Société de pharmacie son travail sur la caféine.

(2) SEGUIN, *Mémoire sur le café.* (ANN. DE CHIMIE, 1814, t. XCII, p. 5.)

(3) PELLETIER, *Note sur la caféine.* (JOURN. DE PHARM. ET DES SCIENCES ACCESSOIRES, n° V, mai 1826, p. 227.)

(4) OUDRY, *Magasin für Pharmacie*, Bd XIX, p. 49.

(5) GÜNTHER, *Buchner's Repert.*, Bd LXI, Heft I, p. 103.

(6) JOBST, *Thein identisch mit Caffein.* (ANNALEN DER PHARMACIE) (LIEBIG'S ANNALEN, 1838, Bd XXV, p. 63.)

Presque en même temps, Berzelius (1) émit, mais d'une façon moins affirmative, une opinion analogue qui fut adoptée par Mulder. Herzog (2), qui avait préparé le chlorhydrate de théine et avait constaté sa facile dissociation à l'air, admit aussi la similitude des alcaloïdes du thé et du café reconnue, dit-il, par Jobst et Mulder.

Il n'est pas sans intérêt de faire remarquer que cette identité des deux produits, déjà affirmée en 1838 et qui n'a cessé d'être confirmée depuis, semble encore être mise en doute par divers auteurs de notre époque, qui paraissent faire une distinction entre le principe actif du Caféier et celui du Thé, et conservent à ce dernier le nom de théine.

La guarana, médicament préparé au moyen des graines du *Paullinia sorbilis* Mart., fut examinée par Martius, en 1837, qui en retira une proportion assez forte d'une substance cristalline à laquelle il donna le nom de guaranine. Mais trois ans plus tard, Berthemot et Dechastelus (3), étudiant les propriétés de cette substance, purent la déclarer identique à la caféine. Le travail de ces deux auteurs fut publié en même temps qu'une note de Martius (4), dans laquelle il dit avoir déjà indiqué la composition de la guaranine en juin 1837. Pourtant, dans la courte notice où il donne uniquement le résultat de l'analyse chimique de sa substance, il la considère encore comme isomère avec la caféine et lui conserve le nom de guaranine.

A ces trois plantes reconnues comme renfermant de la caféine, vint bientôt s'en ajouter une quatrième. Plusieurs fois déjà l'attention avait été attirée par le maté ou thé du Paraguay, servant à la préparation d'une boisson dont les effets étaient analogues à ceux de l'infusion de thé. Ce maté est constitué par les feuilles et les jeunes tiges, brisées en menus fragments, de l'*Ilex paraguensis, I. paraguayensis* Saint-Hil. Trommsdorf (1) et d'autres avaient déjà étudié le maté sans y découvrir la caféine, lorsque Stenhouse (2) entreprit ses recherches sur diverses variétés de thé et sur le maté. Pour séparer l'alcaloïde, Stenhouse opérait par sublimation; aussi la teneur en caféine qu'il signale dans les divers produits examinés est-elle beaucoup trop faible. Mais les caractères chimiques du principe actif du thé et du maté furent trouvés les mêmes, et l'analyse chimique publiée peu de temps après, par le même auteur (3), vint confirmer l'identité des deux substances. En même temps, Stenhouse songea à rechercher la caféine dans des espèces voisines de celles qui en contiennent, mais ses recherches, qui ont porté principalement sur le *Camellia japonica* et l'*Ilex Aquifolium*, restèrent sans résultat.

---

(1) BERZELIUS, *Jahresbericht de Berzelius*, 1838, Bd XVII, p. 302, et Bd XVIII, p. 388.

(2) HERZOG, *Ueber salzsaures Theïn.* [ANNALEN DER PHARMACIE (LIEBIG'S ANNALEN), 1838, Bd XXVI, p. 344.]

(3) BERTHEMOT und DECHASTELUS, *Chemische Untersuchung des Guarana.* (ANN. DER CHEM. UND PHARM., 1840, Bd XXXVI, p. 90.)

(4) MARTIUS, *Ueber die Zusammensetzung des Guaranin.* (ANN. DER CHEM. UND PHARM., 1840, Bd XXXVI, p. 93.)

Pendant une période assez longue, aucune découverte de caféine dans une autre plante ne fut plus renseignée, quoique cette substance continuât à faire l'objet de nombreux travaux de la part de Stenhouse, de Rochleder, de Nicholson, de Peligot, de Strecker, etc. Toutefois, une substance très voisine de la caféine, la théobromine, fut découverte, vers 1847, par Woskresenski qui recherchait la caféine dans le cacao, et elle fut étudiée par Glasson (4) qui montra qu'elle devait être rattachée au groupe de l'alloxane.

---

(1) TROMMSDORF, *Einige Bemerkungen über den Paraguay-Thee.* (ANN. DER PHARMACIE. (LIEBIG'S ANNALEN, 1836, Bd XVIII, p. 89.)

(2) STENHOUSE, *Ueber Theïn und seine Darstellung.* (ANN. DER CHEM. UND PHARM., 1843, Bd XLV, p. 366.)

(3) STENHOUSE, *Nachträgliches über das Theïn.* (ANN. DER. CHEM. UND PHARM., 1843, Bd XLVI, p. 227.)

(4) GLASSON, *Zusammensetzung des Theobromins und einiger seiner Verbindungen.* (ANN. DER CHEM. UND PHARM., 1847, Bd LXI, p. 335.)

Ce ne fut qu'en 1865 que Attfield (1) découvrit la caféine dans la noix de Cola, *Cola acuminata R. Br.*, qui devint ultérieurement l'objet de nombreux travaux, parmi lesquels il suffira de mentionner l'ouvrage très complet de Heckel et Schlagdenhauffen (2).

Peu de temps après, la caféine fut encore extraite d'une Nyctaginacée brésilienne, le *Neea theifera* Oersted, par Scharling (3).

Plus tard, en 1883, alors que Schmidt (4) démontrait la présence de la caféine à côté de la théobromine dans les graines du *Theobroma Cacao* L., Shimoyana (5) la retrouvait également dans les graines du *Sterculia platanifolia* L.

Un autre *Ilex*, *I. Cassine* L., examiné par Venable (6), lui a fourni également une certaine quantité de caféine.

D'après cet aperçu historique, nous voyons que la caféine a été signalée jusqu'à présent chez une ou plusieurs espèces appartenant aux genres *Coffea* (Rubiacées), *Thea* (Théacées), *Paullinia* (Sapindacées), *Ilex* (Aquifoliacées), *Neea* (Nyctaginacées), *Theobroma, Cola, Sterculia* (Sterculiacées).

Néanmoins le principe actif de ces diverses plantes est toujours le même : chez toutes on rencontre la caféine, avec les mêmes caractères et les mêmes propriétés.

Au point de vue de sa composition chimique, la caféine a été l'objet d'un très grand nombre de travaux qu'il est inutile de résumer ici, et qui se clôturent par les belles recherches de Fischer (1), rappelées dans la première partie de ce mémoire.

---

(1) Attfield, *Pharmaceutical Journal*, 1865, t. VI, p. 457.

(2) Heckel et Schlagdenhauffen, *Les Kolas africains*.

(3) Oersted, *Zur Beleuchtung der Blumen des brasilianischen Theestrauches (Neea theifera)*. (Bot. Zeit., 1869, p. 216.) Il dit que Scharling a isolé la caféine de cette plante.

(4) Schmidt, *Ueber das Vorkommen von Cafeïn im Cacao*. (Annalen der Chemie (Liebig's Annalen), 1883, Bd CCXVII, p 306.)

(5) Shimoyana, cité par Gaucher, *loc. cit.*, p. 12.

(6) Venable, *Ilex Cassine* L. (Journal amer. Chem. Soc., april 1885, p. 100.)

*Propriétés chimiques de la caféine.* — La caféine se présente sous forme de fines aiguilles cristallines, blanches, soyeuses, à saveur amère, souvent enchevêtrées et réunies en masses feutrées peu denses. Les cristaux, lorsqu'ils se sont produits au sein d'un liquide aqueux, renferment une molécule ou 8.4 °/₀ d'eau de cristallisation : mais obtenus par l'évaporation de leur solution dans l'alcool absolu ou dans le chloroforme, ils sont anhydres. Dans les dosages, il y a lieu de tenir compte de cette particularité, et il serait prudent de peser toujours la caféine après un traitement par le chloroforme, car les auteurs ne sont pas d'accord sur la température à laquelle l'alcaloïde perd son eau de cristallisation.

Un désaccord existe également au sujet du point de fusion et de la température de vaporisation des cristaux de caféine. Ils fondent, d'après Mulder, à 177°,8-178° ; tandis que Commaille indique 228°-230°, et Strecker 234°-235°, comme point de fusion. Quant à la vaporisation, elle commencerait vers 177° pour Strauch, alors que Peligot la renseigne comme ayant lieu à 384°. Ces énormes écarts doivent être attribués, ainsi que le montrent les recherches de Gaucher, à ce que la caféine émet des vapeurs bien avant d'entrer en fusion. Déjà à 177°, Gaucher a observé cette émission de vapeurs qui a été en augmentant avec la température, et il a remarqué que la fusion des cristaux ne commençait qu'à partir de 228°.

J'ai constaté également que la caféine pouvait être sublimée complètement sans aucune fusion préalable. Elle peut supporter une température élevée sans se décomposer ; mais lorsqu'on la chauffe en présence d'un acide organique ou si on la fond avec les alcalis caustiques, elle dégage de la méthylamine.

---

(1) FISCHER, E., *Synthesen in der Puringruppe.* (BER. D. D. CHEM. GESELLSCH. Berlin, 1899, Bd XXII, p. 435.)

La solubilité de la caféine est très variable suivant les dissolvants. A la température ordinaire, son meilleur dissolvant est le chloroforme qui peut en dissoudre 12.97 °/₀. Puis viennent : l'alcool à 85 °/₀ qui en dissout 2.3 °/₀, l'eau 1.35 °/₀, l'alcool absolu 0.61 °/₀, le sulfure de carbone 0.059 °/₀, l'éther sulfurique 0.044 °/₀. A l'ébullition, l'ordre de solubilité se modifie : l'eau vient en première ligne. Elle en dissout alors 45.5 °/₀, le chloroforme 19.2 °/₀, l'alcool absolu 3.12 °/₀, le sulfure de carbone 0.454 °/₀ et l'éther sulfurique 0.36 °/₀. Tous ces chiffres s'appliquent à la caféine anhydre ; ils sont un peu plus élevés lorsque l'alcaloïde est hydraté.

La solution aqueuse de caféine est sans action sur le papier rouge de tournesol, de même que sur tous les autres réactifs des bases, et elle est incapable de neutraliser la plus minime quantité d'aucun acide. Cependant, ceux-ci dissolvent la caféine et donnent avec elle des produits d'addition très solubles dans l'eau. Mais ces composés sont généralement très instables : la combinaison de caféine et d'acide chlorhydrique, exposée à l'air, perd déjà très rapidement tout son acide ; dissoute dans l'eau ou dans l'alcool, elle est immédiatement dissociée ; et il en est pour ainsi dire de même avec tous les autres sels de caféine, qui ne peuvent donc être considérés comme de véritables combinaisons chimiques. Si l'on neutralise par une base la solution de ces sels, l'alcaloïde ne précipite généralement pas, à cause de sa solubilité plus grande dans les liquides alcalins que dans l'eau.

Un certain nombre de réactifs généraux des alcaloïdes (voir p. 19) donnent des précipités avec la caféine. Mais ces précipitations sont généralement peu caractéristiques et ne se produisent pas toujours ni dans toutes les conditions. En général, les réactions doivent être faites en présence d'acide chlorhydrique ajouté en quantité assez forte.

La solution aqueuse de caféine, traitée par l'iodure de potassium iodé, ne précipite pas. Si l'alcaloïde se trouve en présence d'acide chlorhydrique, on obtient par ce réactif un précipité brun très abondant et, d'après Gaucher, la réaction est encore sensible avec $^1/_{2000}$ de caféine. Dans mes essais de microchimie, je n'ai pu obtenir cette précipitation avec des solutions aussi diluées.

L'iodure double de mercure et de potassium produit, dans une solution chlorhydrique de caféine, un précipité blanc jaunâtre qui disparaît assez vite ; mais, dans certaines conditions, dépendant des proportions de réactif et d'acide chlorhydrique, on constate, très peu de temps après la disparition du précipité, une cristallisation abondante en aiguilles rayonnantes et courbes, d'un aspect très caractéristique. Cette cristallisation ne se manifeste pas chaque fois, et je n'ai pu m'occuper de déterminer les conditions précises de sa formation.

L'iodure double de bismuth et de potassium acidifié produit un précipité rouge-orange peu stable.

L'acide phosphomolybdique donne un précipité blanc jaunâtre, beaucoup plus intense en présence d'acide chlorhydrique, et qui, vu au microscope, présente un aspect plus foncé et grumeleux.

Le tanin forme un précipité blanc, caillebotté, abondant.

D'autres réactifs, comme le bichlorure de mercure, le chlorure d'or, le chlorure de platine, donnent des précipités cristallins avec la caféine, lorsqu'on les emploie en concentration suffisante. En solution diluée, le liquide reste limpide.

La caféine présente aussi une réaction colorée. Chauffée jusqu'à siccité, au bain-marie, avec un oxydant énergique, tel que l'acide azotique, le chlore, le brome, etc., il se produit de la cholestrophane ou acide diméthylparabanique qui, au contact de l'ammoniaque, prend une belle coloration rouge pourpre, par suite de la formation de murexide. Cette réaction n'est pas spéciale à la caféine et se produit avec certains dérivés puriques, comme l'acide urique, par exemple. De plus, pour l'obtenir, il faut que la caféine soit dans un assez grand état de pureté. En présence de matières organiques, elle peut ne pas se produire, et c'est pour cette raison qu'on ne l'obtient jamais dans les cellules.

*Recherche microchimique de la caféine.* — La caractérisation microchimique de la caféine peut consister en une simple recherche au microscope d'une minime quantité de l'alcaloïde, ou bien elle peut avoir pour but essentiel de déceler celui-ci à l'intérieur même des cellules qui le contiennent. Il est bien évident que l'on ne devra parler de localisation que dans ce dernier cas, et il est nécessaire d'attirer l'attention sur ce point, pour expliquer les contradictions que l'on rencontre entre les divers auteurs qui se sont occupés de cette question. Schimper (1) dit que la localisation microchimique de la caféine n'est pas possible, tandis que Molisch (2) indique deux méthodes pour caractériser cet alcaloïde au microscope. Mais celles-ci ne permettent pas de le localiser, et l'auteur doit bien le reconnaître lui-même. Il a vainement essayé l'emploi des principaux réactifs des alcaloïdes; et de ce que ceux-ci ne donnent aucun résultat dans la localisation de la caféine, Molisch semble inférer (pp. 15-16) qu'il en est de même avec tous les alcaloïdes. Il émet un doute, absolument non fondé, au sujet des résultats fournis par l'iodure de potassium iodé, l'acide phosphomolybdique, etc., dans la recherche microchimique des bases de la série pyridique.

Pour caractériser la caféine, Molisch dépose une ou plusieurs coupes dans une goutte d'acide chlorhydrique concentré et, au bout d'une minute environ, il ajoute une goutte d'une solution de chlorure d'or à 3 °/₀. Lorsque le liquide commence à s'évaporer, on voit apparaître sur le bord de la goutte (et non dans les coupes) des cristaux caractéristiques d'une combinaison chlorhydrique d'or et de caféine.

---

(1) SCHIMPER, *Anleitung z. mikroskopischen Untersuchung d. Nahrungs- u. Genussmittel* Iéna, 1886.

(2) MOLISCH, H., *Grundriss einer Histochemie der pflanzlichen Genussmittel.* Iéna, 1891.

La seconde méthode de Molisch consiste à placer les coupes dans une goutte d'eau distillée, à les chauffer jusqu'à 100° et à laisser ensuite l'eau s'évaporer entièrement. Sur le résidu, complètement amorphe, on verse une goutte de benzine qui dissout la caféine et qui, en s'évaporant ensuite, laisse une grande quantité de cristaux microscopiques de caféine.

Hanausek (1) qui, peu de temps après Molisch, s'est occupé de la recherche microchimique de la caféine, emploie également le chlorure d'or comme réactif. Toutefois, il signale en outre qu'il se dépose en même temps, sur le bord de la goutte qui s'évapore, des cristaux de chlorure d'or présentant une forme particulière ensuite de leur cristallisation au sein d'un excès d'acide chlorhydrique, et qui peuvent être confondus avec les cristaux de la combinaison de caféine. Seulement, ils sont un peu plus gros et plus courts, et ne se terminent pas en pointe.

Ces procédés ne permettent pas de localiser l'alcaloïde dans les cellules et sont, de plus, très peu sensibles. C'est ainsi que Molisch recommande de déposer plusieurs coupes à la fois, et de ne pas les faire trop minces. Ses essais ont porté sur des coupes de graines de Caféier. Dans l'examen du Thé d'après ses méthodes, il a pu caractériser la caféine dans les jeunes feuilles, mais il n'a obtenu aucun résultat avec les feuilles adultes, qui sont cependant encore assez riches en principe actif.

L'emploi des divers réactifs précipitants dans la recherche microchimique de la caféine a été de nouveau tenté par Gaucher (2), en 1895. Cet auteur a étudié l'action de l'iodure de potassium iodé, du ferrocyanure de potassium, du molybdate d'ammonium, du tungstate de sodium, de l'acide phosphomolybdique et du chlorure d'or. Il traitait ses coupes, au préalable, par l'acide chlorhydrique pour isoler, dit-il, la caféine de sa combinaison avec l'acide cafétannique, et pouvoir la caractériser au sein de sa solution chlorhydrique. Il reconnaît que, par ce procédé, ce n'est pas exactement la localisation au sens propre du mot qu'il a obtenue dans ses recherches.

---

(1) Hanausek, T.-F., *Zur histochemischen Caffeinreaction*. (Zeitschr. d. allg. Oest. Apotheker-Vereins, 1891, p. 606.)

(2) Gaucher, *De la caféine et de l'acide cafétannique dans le Caféier* (*Coffea arabica* L.). *Recherches microscopiques*. Montpellier, 1895.

Gaucher n'entre pas dans de grands détails sur sa technique. Ses réactions étaient obtenues en dehors des cellules, et il caractérisait surtout la caféine par les diverses teintes que prenait, au bout d'un certain temps, le précipité obtenu par le molybdate de sodium ou par l'acide phosphomolybdique, ou encore par le vanadate d'ammonium à chaud. Toutes ces colorations, que Gaucher semble considérer comme caractéristiques, ne sont que l'indice d'une réduction du réactif, réduction que de nombreuses substances organiques peuvent provoquer. Il s'étonne de ce que les auteurs n'aient jamais signalé cette réduction de l'acide phosphomolybdique par la caféine. Mais dans les recherches sur les alcaloïdes végétaux, on observe fréquemment une telle réduction ; elle n'a rien de caractéristique, et l'on ne peut rien en déduire au point de vue microchimique. Toutes les méthodes employées par Gaucher manquent de précision et de sensibilité, et la meilleure preuve en est dans la conclusion de l'auteur, qui admet que la jeune plantule de *Coffea*, non encore pourvue de chlorophylle, ne renferme pas de caféine. Or cette conclusion, comme nous le verrons plus loin, est tout à fait inexacte.

Dans un traité récent, H. Behrens(1), après avoir indiqué les caractères des cristaux de caféine, renseigne plusieurs essais microchimiques permettant de la caractériser. Le chlorure mercurique précipite dans les solutions concentrées des cristaux en aiguilles plus réfringentes; et, dans les mêmes conditions, le nitrate d'argent, en présence d'un peu d'acide nitrique, donne de petites touffes de minces cristaux enchevêtrés. Pour caractériser la caféine dans le thé et les autres produits qui en renferment, Behrens conseille de chauffer la substance broyée avec un peu de chaux et de sublimer l'alcaloïde que l'on peut caractériser ensuite. Aucune des méthodes indiquées ne permet d'obtenir une localisation vraie.

---

(1) Behrens, H., *Anleitung zur mikrochemischen Analyse der wichtigsten organischen Verbindungen,* 1897, Heft IV, p. 14.

Pendant un séjour à Buitenzorg (Java), en 1896-1897, j'ai entrepris des recherches sur le rôle de la caféine dans les plantes. J'ai eu recours d'abord à la microchimie, et j'ai tenté de déterminer la localisation de la caféine dans le Caféier ou le Thé. Malgré de nombreux essais sur un matériel très abondant, je ne suis pas arrivé à mon but, qui était de caractériser l'alcaloïde à l'intérieur des cellules et de pouvoir déterminer en même temps sa plus ou moins grande abondance chez les diverses plantes soumises à des conditions de végétation variées. Mes recherches, dans ce sens, n'ont pas abouti. Elles m'ont bien permis d'obtenir, dans les cellules, des précipitations de l'alcaloïde, mais généralement ces précipités n'étaient pas seuls : d'autres précipités les accompagnaient qui pouvaient prêter à confusion et empêchaient de se rendre compte de l'intensité de celui de caféine. Il eût fallu aussi pouvoir vérifier ces précipitations par une réaction colorée; mais, comme je l'ai dit déjà, cette réaction ne se produit pas dans les tissus, non pas à cause d'une trop faible quantité de substance, ainsi que le pensent certains auteurs, mais par suite de la présence des matières organiques. Il est aisé de s'en assurer en ajoutant une petite quantité de caféine à une mince coupe d'une graine de Caféier et d'essayer, dans ces conditions, la réaction de la murexide. Le résultat est toujours négatif.

Par suite de la grande difficulté de préciser microchimiquement la localisation de la caféine, et comme les recherches au sujet de la technique de cette localisation paraissaient devoir être très longues, j'ai cru préférable, à cause du temps limité dont je disposais à Java, de ne pas les poursuivre à ce moment, et d'avoir recours, pour mes expériences physiologiques sur le Caféier et le Thé, à l'analyse chimique ordinaire. Il n'en résulte pas que je considère la localisation microchimique de la caféine comme impossible, mais elle présente de grandes difficultés et demande encore de longues études préliminaires.

*Recherche chimique de la caféine.* — Les méthodes indiquées pour extraire et doser la caféine dans les plantes sont excessivement nombreuses, et il serait trop long et sans aucun intérêt de les énumérer toutes ici. Je m'en tiendrai donc à la seule description du procédé que j'ai adopté pour toutes mes recherches et qui m'a été indiqué par MM. van Romburgh et Lohmann. Ce procédé, très simple, très rapide, est en même temps très précis et convient particulièrement lorsqu'on ne dispose que de petites quantités de matière. C'était le cas dans lequel je me trouvais fréquemment lorsqu'il me fallait doser l'alcaloïde dans une jeune branche de Caféier ou dans un petit rameau de Thé, pesant à peine quelques grammes à l'état sec.

Pour doser la caféine, cinq à dix grammes de substance sèche, en poudre grossière, sont placés dans un extracteur à reflux et épuisés par 100 à 150 c. c. d'alcool à 90° additionné de quelques gouttes d'acide acétique. Au bout d'une heure environ, quand l'alcool qui traverse la poudre tombe presque incolore, toute la caféine a été extraite et se trouve en dissolution alcoolique dans le ballon inférieur. On sépare ensuite l'alcool par distillation. Le résidu est repris par l'eau distillée et forme un liquide très trouble, auquel on ajoute quelques centimètres cubes d'acétate basique de plomb. Par addition d'eau distillée, ce liquide est amené à un volume bien déterminé, 100 ou 200 centimètres cubes, suivant la quantité de matière employée. On agite quelques instants, puis on laisse reposer le liquide. Quand le précipité volumineux produit par l'acétate basique de plomb commence à se déposer, on filtre le liquide. Si l'on a opéré avec soin, cette filtration se fait facilement et permet de recueillir, en peu d'instants, les quatre cinquièmes environ du liquide total. Le liquide filtré est ensuite traité par un courant d'hydrogène sulfuré pour précipiter l'excès de plomb. On filtre de nouveau, et dans une éprouvette graduée, afin de déterminer exactement le volume du liquide obtenu.

Celui-ci est alors évaporé au bain de sable et réduit à 20 c. c. environ. Après refroidissement, il est épuisé, à plusieurs reprises, par du chloroforme qui dissout la caféine et l'enlève à la dissolution aqueuse. Le chloroforme est recueilli dans un petit matras taré : on le distille et la caféine reste comme résidu; on place le matras à l'étuve à 110° jusqu'à poids constant et l'on pèse après refroidissement.

Le poids obtenu ne représente pas la totalité de l'alcaloïde contenu dans la poudre : il ne représente que la quantité dissoute dans le liquide filtré obtenu après le traitement par l'acétate basique de plomb et par l'hydrogène sulfuré. Mais, connaissant le volume de ce liquide et celui du liquide primitif, il est facile de déduire la quantité totale d'alcaloïde contenue dans la poudre analysée. En opérant ainsi, on évite tous les lavages, ce qui fait économiser un temps considérable. La caféine extraite par ce traitement est très pure, très blanche, et peut être pesée directement, sans purification ultérieure.

Par ce procédé, le dosage d'un échantillon de thé ou de café pouvait être complètement terminé en moins d'une matinée; et les résultats en sont des plus satisfaisants. Je me suis assuré plusieurs fois si l'épuisement par l'alcool extrayait toute la caféine et si celle-ci n'était pas entraînée en partie par le précipité formé par l'acétate basique de plomb. En outre, j'ai vérifié la pureté de la caféine séparée par le chloroforme; et, pour plus de certitude, j'ai pris la précaution de conserver dans un petit matras tout l'alcaloïde provenant de mes dosages et d'examiner sa pureté à la fin de mes recherches.

Dans toutes mes analyses, j'ai eu soin, chaque fois, d'opérer de façon identique, ayant toujours recours au même procédé, afin de pouvoir comparer d'une façon absolue les résultats des diverses expériences. De plus, les matériaux destinés à l'analyse ont toujours été préparés de la même manière : immédiatement après avoir été cueillis, les rameaux ou les jeunes plantes de Thé ou de Café étaient pesés, puis coupés en petits fragments au moyen d'un sécateur et mis de suite à l'étuve chauffée vers 105° pendant quelques instants, pour tuer les cellules et leur faire perdre toute turgescence. La température de l'étuve était ensuite abaissée et maintenue vers 50° jusqu'à dessiccation. Celle-ci obtenue, la substance était laissée un certain temps à l'air afin qu'elle se mît en équilibre d'humidité avec celui-ci. Après avoir été pesée de nouveau, la substance était grossièrement pulvérisée dans un mortier en fer, puis conservée dans un récipient en verre hermétiquement clos. La quantité d'eau restant dans cette poudre était déterminée sur un petit échantillon chauffé à l'étuve, à 105° à 110°, jusqu'à poids constant.

De cette façon, les parties qui m'ont servi pour les dosages de caféine ou d'azote n'avaient jamais été portées préalablement à une température supérieure à 50°, à part les quelques instants de chaleur plus élevée au début. Elles étaient ainsi soustraites aux changements que pouvait parfois occasionner l'action d'une température de 105° à 110°, maintenue pendant le temps nécessaire, et forcément assez long, pour dessécher complètement dix grammes environ de poudre grossière contenue dans un tube ouvert.

*Répartition de la caféine dans les diverses parties du Caféier et du Thé.* — On peut trouver, dans la littérature, de très nombreux renseignements sur la quantité d'alcaloïde contenue dans les graines de Café ou les feuilles de Thé. Mais les chiffres donnés varient énormément. Très faibles dans les premières analyses, ils ont été rapidement en augmentant à mesure que se perfectionnaient les méthodes de dosage.

Ce fait est surtout manifeste dans le relevé des principales analyses du café qu'ont publié Paul et Cownley (1). Voici les différentes teneurs indiquées : 0.32 à 0.65 %, Robiquet ; 0.23 à 0.46 %, Liebig ; 0.75 %, Zenneck ; 0.88 à 1.00 %, Graham, Campbell, Stenhouse ; 0.99 à 1.22 %, Dragendorff ; 1.00 à 1.31 %, Squibb ; 1.08 à 1.11 %, Bell ; 0.50 à 2.00 %, Allen ; enfin, Paul et Cownley obtiennent dans leurs analyses des valeurs qui varient entre 1.10 % et 1.28 % de caféine. Les teneurs les plus fortes leur ont été fournies par des cafés de Libéria.

Pour le Thé, il en est de même. Les premiers dosages indiquent à peine 1 % de caféine. Les résultats de Stenhouse, qui opérait par sublimation, oscillent entre 0.98 et 1.37 %. Mais les nombreux dosages ultérieurs donnèrent des chiffres bien plus élevés et les méthodes analytiques actuelles accusent en général une teneur de 3 à 3.5 % de caféine.

Si les renseignements abondent au sujet des graines du Caféier ou des feuilles du Thé, il n'en est plus de même en ce qui concerne les autres parties de ces plantes. Quelques données, éparpillées dans la littérature, doivent être acceptées avec beaucoup de circonspection. C'est ainsi, par exemple, que Gaucher (2), qui s'est occupé du *Coffea arabica* L., ne trouve pas de caféine dans les tiges et ne parvient à extraire des feuilles de cette plante que 0.22 % d'alcaloïde. Cette teneur se rapproche, dit-il, de celle obtenue par Rigout, et qui était de 0.18 %. Il a constaté aussi que le péricarpe du fruit et la racine étaient exempts de caféine.

---

(1) PAUL et COWNLEY, *Sur la teneur des cafés en caféine.* (PHARMACEUTICAL JOURNAL, 15 janvier 1887.)

(2) GAUCHER, *loc. cit.*, pp. 43 et 44.

La présence du principe actif dans les feuilles du *Coffea arabica* L. était connue depuis très longtemps des indigènes de Sumatra et de Bornéo qui préparent, en guise de thé, une infusion des jeunes feuilles séchées du Caféier. Stenhouse (1), qui a signalé ce fait intéressant, a démontré en même temps la forte proportion de caféine contenue dans ces feuilles. Il en a retiré près de 1.5 °/₀ d'alcaloïde, et il dit déjà que ces feuilles sont plus riches que les graines et aussi riches que le Maté.

Les meilleurs renseignements sur la richesse comparative en alcaloïde des diverses parties de la plante de *Coffea* et de *Thea* nous sont fournis par les *Rapports annuels du Jardin botanique de Buitenzorg*, dans lesquels sont indiquées diverses analyses faites par van Romburgh (2). Celles-ci, étant données les conditions dans lesquelles elles ont été effectuées, doivent être considérées comme d'une très grande exactitude et comme absolument comparables.

Une première série d'analyses, faites en 1890, montre nettement la grande différence qui existe entre les deux espèces de *Coffea* cultivées :

*A*. Feuilles de *Tjikeumeuh*-koffie, *Coffea arabica* L.

| | | |
|---|---|---|
| Feuilles jeunes . . . . . . . | 1.6 °/₀ | de caféine. |
| Feuilles adultes . . . . . . . | 1.1 °/₀ | — |

*B*. Feuilles de *Libéria*-koffie, *Coffea liberica* Hiern.

| | | |
|---|---|---|
| Feuilles jeunes . . . . . . . | 0.6 °/₀ | de caféine. |
| Feuilles adultes . . . . . . . | 0.0 °/₀ | — |

Dans l'écorce de la racine, il n'y a pas d'alcaloïde, et dans les graines d'un échantillon de café de Libéria, Van Romburgh a dosé 1.30 de caféine.

---

(1) Stenhouse, *Notices chimiques*. [Ann. de chim. et de phys., 1854 (3), t. LXI, p. 191. (Trad. des *Ann. d. Chem. und Pharm.*)].

(2) Van Romburgh en Lohmann, *Onderzoekingen betreffende op Java gecultiveerde Theeën*, in Verslag omtrent den staat van 's Lands Plantentuin te Buitenzorg over het jaar 1896, p. 159. Voir aussi le même Verslag pour 1890, p. 43.

En 1896, le même auteur indique les résultats suivants :

*A. Java*-koffie, *Coffea arabica* L.

| | | |
|---|---|---|
| Feuilles adultes | 1.1 °/o | de caféine. |
| Tiges jeunes | 0.6 °/o | — |
| Vieilles tiges (encore vertes) | 0.2 °/o | — |

*B. Liberia*-koffie, *Coffea liberica* Hiern.

| | | | |
|---|---|---|---|
| Pétales | | 0.3 °/o | de caféine |
| Péricarpe vert | | traces. | — |
| Graines non mûres | | 1.2 °/o | — |
| Péricarpe rouge | | traces. | — |
| Graines mûres | | 1.3 °/o | — |
| Téguments | | traces. | — |
| Jeunes gourmands | feuilles | 0.9 °/o | — |
| | tiges | 1.1 °/o | — |
| Écorce | | traces. | — (1) |

Dans les diverses parties des plantes de Thé, van Romburgh et Lohmann ont trouvé les proportions suivantes :

*Camellia Thea* (*Thea sinensis* et *Thea assamica*).

| | | | |
|---|---|---|---|
| Fleurs | Pétales | 0.8 °/o | de caféine. |
| | Sépales verts | 1.5 °/o | — |
| Fruits | Péricarpe vert | 0.6 °/o | — |
| | Graine | 0.0 °/o | — |
| Première et seconde feuille | | 3.4 °/o | — |
| Cinquième et sixième feuille | | 1,5 °/o | — |
| Tige entre cinquième et sixième feuille | | 0.5 °/o | — |
| Poils des jeunes feuilles | | 2.2 °/o | — |

---

(1) Après mon départ de Buitenzorg et à la suite de la lecture du travail de Gaucher, j'ai prié M. Lohmann, en août 1898, de bien vouloir faire quelques dosages de caféine dans les tiges et feuilles de *Coffea arabica* L. Voici les résultats qu'il m'a transmis et pour lesquels je lui exprime mes vifs remerciements :

| | | |
|---|---|---|
| Feuilles adultes | 1.08 °/o | de caféine. |
| Tiges jeunes | 0.58 °/o | — |
| Tiges vieilles (encore vertes) | 0.19 °/o | — |

Ces résultats, on le voit, confirment pleinement ceux de van Romburgh en 1896.

De ces analyses découlent quelques constatations intéressantes. Il existe une différence très nette entre les deux espèces de *Coffea*, dont l'une, le Caféier de Libéria, ne contient d'alcaloïde que dans ses parties jeunes, tandis que le Caféier d'Arabie en conserve une certaine quantité dans ses feuilles adultes. Ce dernier cas se présente également chez le Thé, dont les feuilles anciennes renferment encore, d'après Kellner, 0.84 °/₀ de caféine.

Chez les *Coffea*, aussi bien que chez le *Thea*, la plus forte proportion d'alcaloïde se rencontre toujours dans les parties très jeunes en voie de développement; mais une grande différence se manifeste entre ces deux genres au point de vue de leurs fruits. Celui du Caféier ne contient pas de caféine dans le péricarpe, tandis que la graine en est riche. Chez le Thé, l'inverse se produit : le péricarpe seul renferme de l'alcaloïde et la graine en est dépourvue. Un autre fait curieux et qui est à rapprocher des localisations d'alcaloïdes déterminées microchimiquement chez un grand nombre de plantes vénéneuses, est la forte proportion de caféine dans les poils qui recouvrent les jeunes feuilles du Thé. Cette localisation m'a été de nouveau confirmée par M. van Romburgh à la fin de 1897.

## Recherches physiologiques sur les Coffea et les Thea.

### A. — *Coffea arabica* L. et *Coffea liberica* Hiern.

Ces deux espèces, morphologiquement distinctes, présentent, comme on vient de le voir, des différences très marquées dans leur teneur en caféine. Pour des recherches physiologiques, cette différence était avantageuse en certains cas; et, suivant les points à élucider, l'une ou l'autre espèce était préférée. Grâce aux vastes installations du Jardin botanique de Buitenzorg (Java), où toutes ces recherches ont été faites, et grâce à l'extrême obligeance de son directeur, M. le Dr M. Treub et de M. van Romburgh, auxquels je tiens à exprimer toute ma gratitude, j'ai pu disposer, pour mes expériences, d'un très grand nombre de pieds des deux *Coffea,* à différents états de développement et ayant tous été cultivés dans des conditions normales.

Pour toutes les recherches physiologiques qui demandent à être faites comparativement, les jeunes Caféiers présentent de très grands avantages. Jusqu'à l'âge de 4 à 5 ans, la plante est constituée par un axe vertical, orthotrope, duquel partent, de distance en distance, des paires de rameaux secondaires, opposés, plagiotropes, de longueur décroissante à mesure que l'on s'approche du sommet, et qui ne se ramifient que tardivement. Les rameaux de chaque paire sont presque toujours très comparables entre eux; ils présentent un même développement et portent chacun un nombre égal de paires de feuilles. Leur teneur en caféine est identique.

Cette disposition des rameaux était donc excessivement avantageuse, et nous l'avons très souvent mise à profit. Fréquemment, un rameau de chaque paire était laissé intact et servait de témoin, ou bien était prélevé au moment de la mise en expérience pour en déterminer la richesse en caféine.

C'est surtout dans les recherches dites d'annélations, très nombreuses, que j'ai eu recours à ce procédé. Mais, avant de donner les résultats de celles-ci, je crois préférable de commencer par l'exposé de mes observations sur la germination de la graine du Caféier.

*Germination.* — Le premier auteur qui se soit occupé du sort de la caféine au cours de la germination est Heckel (1) qui, dans une courte notice, a signalé que cet alcaloïde disparaissait pendant la germination des graines de *Sterculia acuminata* et servait au développement de la jeune plantule. Il a même constaté, dans celle-ci, la présence d'une certaine quantité de nitrate de potassium; ce fait serait très remarquable s'il n'était l'indice que les graines ont été mises à germer dans de la terre.

Gaucher (2), en 1895, dit être arrivé au même résultat avec les graines de *Coffea arabica* L. Il n'a pu caractériser microchimiquement la caféine dans la jeune plantule pendant la première période de sa croissance, et il admet que l'alcaloïde a été utilisé.

Mes recherches m'ont donné des résultats absolument opposés. En janvier 1897, des graines mûres et décortiquées de *Coffea liberica* sont mises à germer entre des feuilles de papier à filtrer, tenues très humides et placées sur de petites claies, dans une caisse spéciale servant aux essais de germination des graines de café qui se font constamment au laboratoire du *Cultuurtuin* de Buitenzorg. Au bout d'un mois environ, la jeune racine commence à sortir d'un grand nombre de graines. J'enlève une partie des graines qui ne montraient aucune tendance à germer, et le reste des graines non germées est laissé dans le papier maintenu humide pendant quelques mois pour voir si, au bout de ce temps, ces graines non germées ne perdraient pas une partie de leur caféine par diffusion.

---

(1) Heckel, E., *Sur l'utilisation et les transformations de quelques alcaloïdes dans la graine pendant la germination.* (Comptes rendus de l'Acad. des sciences de Paris, t. CX, janvier 1890, p. 88.)

(2) Gaucher, *loc. cit.*, pp. 37 et 38, et Conclusions.

Quant aux graines dont la radicule commençait à sortir, elles sont placées sur une petite claie en bois, de façon à ce que la jeune racine, en s'allongeant, vienne plonger dans de l'eau distillée, contenue dans un cristallisoir disposé au dessous. Le tout est laissé à l'obscurité dans la caisse. Lorsque la racine a atteint une longueur de plus de 10 centimètres et que l'hypocotyle s'est allongé, mais avant l'étalement complet des cotylédons, les plantules, absolument incolores, sont soumises à l'analyse. Elles ont perdu 18 °/₀ du poids initial. Les différents dosages des graines et des plantules de cette expérience ont donné les résultats suivants :

| | | |
|---|---|---|
| Graines mûres avant la germination . . . . | 1.42 °/₀ | de caféine. |
| Plantules issues de ces graines . . . . . . | 1.75 °/₀ | — |
| Graines n'ayant pas germé . . . . . . . . . | 2.82 °/₀ | — |
| Graines n'ayant pas germé et laissées trois mois entre du papier humide . . . . . . | 1.70 °/₀ | — |

D'après ces analyses, on voit que la proportion d'alcaloïde ne diminue pas au cours de la germination. Il semble même se manifester une augmentation, mais si l'on tient compte de la perte de poids subie par les plantules, on constate que la proportion est restée la même : soit 1.435 °/₀ du poids primitif. Néanmoins, il y a, en réalité, une augmentation, car la teneur des graines mûres, 1.42 °/₀, est trop forte si l'on a en vue les seules graines capables de germer, environ 15 °/₀ des graines mûres ne germant pas et se montrant, comme on l'a vu, particulièrement riches en caféine. Les plantules étiolées contiennent donc plus de caféine que les graines dont elles dérivent.

J'ai vérifié à plusieurs reprises ces résultats sur d'autres échantillons de graines que M. Van Romburgh avait mis à germer pour essayer leur pouvoir germinatif.

Dans les résultats des analyses donnés ci-dessus, on remarquera la forte teneur en caféine des graines n'ayant pas germé. J'ai observé plusieurs fois cette particularité qui n'a pas encore été signalée, à ma connaissance. En maintenant pendant longtemps ces graines non germées entre des feuilles de papier buvard humide. elles perdent lentement une partie de leur alcaloïde, ce qui démontre que dans certains cas une partie de l'alcaloïde peut disparaître de graines mises dans le sol ou en contact avec des substances humides, sans que pour cela il ait été utilisé.

De ce que l'alcaloïde ne disparaît pas au cours de la germination, il ne s'ensuit pas nécessairement qu'il ne constitue pas une réserve nutritive pour la jeune plante. Les expériences de Pfeffer sur l'asparagine ont montré qu'en l'absence de lumière cette substance plastique s'accumulait et ne pouvait être utilisée, à cause de l'absence de matières hydrocarbonées. Dès que la plantule étiolée peut assimiler, on voit très rapidement l'asparagine diminuer et disparaître.

Ne pourrait-il en être de même avec la caféine? Son accumulation dans la plantule n'est-elle pas le résultat d'une insuffisance d'aliments ternaires? Pour vérifier ce fait, j'ai pu disposer d'un lot de graines de *Coffea arabica* qui avaient été semées en terre, dans une caisse en bois, et tenues à l'abri de la lumière par des planches qui recouvraient la caisse. Une partie des plantules fut arrachée soigneusement lorsque l'hypocotyle s'était déjà allongé, mais avant l'étalement des cotylédons. Le reste fut ensuite laissé à découvert en pleine lumière, jusqu'à ce que les cotylédons se fussent bien étalés et eussent acquis leur dimension normale en prenant une teinte d'un vert foncé. Le développement des premières feuilles est assez lent chez les *Coffea*, et je n'ai pu attendre leur apparition avant de faire l'analyse de ces jeunes plantes. Mais lorsque je les ai enlevées pour doser la caféine qu'elles pouvaient contenir, les cotylédons très verts, bien étalés, avaient pu assimiler pendant plusieurs semaines. Les analyses des plantules aux deux états de développement ont donné les résultats suivants :

| | |
|---|---|
| α. Plantules non éclairées avant l'étalement des cotylédons. . . . . . . . . . . . | 1.76 °/₀ de caféine. |
| β. Plantules à la lumière avec cotylédons étalés et ayant pu assimiler. . . . . . | 1.46 °/₀ — |

Il semble, à première vue, que la caféine ait diminué dans les plantules exposées à la lumière. Mais cette diminution n'est qu'apparente et est due à l'augmentation de poids des plantules par suite de l'assimilation. En effet, si nous prenons le poids sec par 100 plantules, les pesées indiquent :

100 plantules à l'obscurité pèsent 17$^{gr}$,20 = 302 milligr. de caféine.
100 — à la lumière pèsent 26$^{gr}$,10 = 381 —

Ainsi donc, l'assimilation n'a provoqué aucune diminution de la quantité totale de caféine contenue dans chaque plante.

Par conséquent, chez le *Coffea*, l'alcaloïde ne disparaît pas lors de la germination de la graine; au contraire, sa proportion devient plus forte, et à mesure que la plantule s'accroît du fait de l'assimilation, la quantité totale de caféine qu'elle renferme ne cesse d'augmenter.

*Mise à l'obscurité.* — Toute plante mise à l'obscurité commence par utiliser une grande partie de ses réserves nutritives, et, très rapidement, perd l'amidon qu'elle contenait. Nos expériences ont eu surtout pour but, ici, de vérifier les recherches de divers auteurs qui ont cru constater la disparition de l'alcaloïde en l'absence de lumière, et en ont déduit que celui-ci constituait une réserve au même titre que l'amidon.

Au bout d'un séjour plus ou moins prolongé à l'obscurité, la plante présente un phénomène particulier : l'étiolement. En général, les entrenœuds s'allongent fortement, la chlorophylle s'altère, les tissus blanchissent et sont constitués par des cellules très grandes, à parois minces, à contenu très aqueux, les feuilles restent rudimentaires. Lorsque dans une plante étiolée on veut caractériser microchimiquement un alcaloïde, il semble que la proportion de celui-ci ait fortement diminué ; mais cette diminution n'est généralement qu'apparente. Par suite de la proportion plus grande d'eau dans les cellules des tissus étiolés, l'alcaloïde se trouve en solution plus diluée et l'intensité de sa réaction microchimique en est notablement affaiblie, ce qui fait admettre, par certains auteurs, que la quantité d'alcaloïde a diminué.

Chez le Caféier l'étiolement est fort peu marqué : au bout d'un séjour assez prolongé à l'obscurité, la teinte des feuilles adultes se modifie à peine et la décoloration n'atteint que les parties très jeunes, qui ne s'allongent que faiblement.

Mes recherches ont été entreprises sur un lot de jeunes plantes de *Coffea liberica*, âgées d'environ un an à un an et demi, et cultivées dans une grande caisse remplie de terre. Les plantes y étaient très serrées ; et, quoique bien portantes, elles n'étaient pas très développées.

Le 12 décembre, j'ai enlevé treize plantes pour les analyser, et la caisse a été mise à l'obscurité dans une armoire de l'annexe d'un des laboratoires.

Le 24 décembre, j'ai pris douze nouvelles plantes dans la caisse et le 7 janvier suivant, après vingt-six jours à l'obscurité, j'ai arraché soigneusement de nouveau huit plantes. Les résultats des analyses des plantes enlevées aux différents moments sont les suivants :

| | | |
|---|---|---|
| Avant la mise à l'obscurité . . . . . | 0.51 °/₀ | de caféine. |
| Après 12 jours d'obscurité . . . . | 0.44 °/₀ | — |
| Après 26 — . . . . | 0.60 °/₀ | — |

L'ensemble de ces chiffres montre que la caféine ne disparaît pas à l'obscurité.

Entre les différentes plantes d'un même lot de *Coffea*, il existe souvent d'assez grandes variations dans la teneur en caféine, et c'est ce qui explique les fluctuations entre les trois séries d'analyses ci-dessus, d'autant plus encore que l'espèce en expérience était ici le *Coffea liberica*. Mais, néanmoins, l'ensemble de cette recherche permet de conclure à la non-utilisation de la caféine à l'obscurité, et cette conclusion est corroborée par d'autres expériences sur des rameaux annelés de *Coffea arabica* et sur des plantes de Thé.

*Expériences d'annélations.* — Les modifications chimiques qui se produisent dans les rameaux des plantes, à la suite des incisions annulaires, nous sont encore très peu connues. Par cette opération, on empêche en grande partie le transport des matériaux plastiques élaborés dans les feuilles du rameau annelé, et il semble qu'il doive y avoir de ce fait, dans celui-ci, une accumulation des produits d'assimilation. Le diamètre de la partie du rameau située au-dessus de l'annélation augmente d'habitude considérablement, et au bord supérieur de l'incision se forme généralement un gros bourrelet qui finit parfois par rejoindre le bord inférieur et se souder avec lui en rétablissant la communication libérienne.

Dans ses intéressantes recherches sur le *Pangium eaule*, Treub (1) s'est beaucoup servi des incisions annulaires, au moyen desquelles il provoquait l'arrêt du transport et l'accumulation de l'acide cyanhydrique dans le liber.

J'ai pratiqué de très nombreuses annélations sur des rameaux de *Coffea arabica*, et toujours avec le même résultat : une diminution marquée de la caféine dans le rameau annelé. Le Caféier convenait excessivement bien pour ces expériences, ainsi que cela a été expliqué plus haut (p. 43). J'annelais chaque fois un seul rameau de chaque paire; l'autre, laissé intact, servait de témoin et était enlevé pour l'analyse, soit à la fin, soit parfois au début de l'expérience.

---

(1) Treub, M., *Sur la localisation, le transport et le rôle de l'acide cyanhydrique dans le* Pangium edule *Reinw.* (Ann. du Jard. bot. de Buitenzorg, 1896, t. XIII, p. 1.)

Voici les résultats de quelques-unes de ces recherches :

Des rameaux d'une même plante, annelés le 19 décembre, sont coupés le 7 janvier et analysés, ainsi que les témoins :

Rameaux annelés = 32.93 °/o mat. sèche et 0,68 °/o de caféine.
Témoins non annelés = 27.77 °/o — 0,97 °/o —

Quatre rameaux d'une autre plante, annelés le 19 décembre et cueillis le 12 janvier, ont donné à l'analyse :

Rameaux annelés = 22.47 °/o mat. sèche et 0,81 °/o de caféine.
Témoins non annelés = 19.45 °/o — 1,04 °/o —

Ces annélations ont été faites vers la base des rameaux. A la fin de décembre, sur d'autres *Coffea arabica*, je pratique les incisions annulaires vers le milieu des rameaux, de façon à pouvoir analyser séparément la partie supérieure et la partie inférieure de ceux-ci et des rameaux témoins. Au bout d'un mois, à la fin de janvier, l'expérience est arrêtée et les quatre parties sont soumises à l'analyse, qui donne les résultats suivants :

Rameau annelé, partie supérieure . . . 0.61 °/o de caféine.
— témoin, — . . . 0.80 °/o —
— annelé, partie inférieure . . . 0.56 °/o —
— témoin, — . . . 0.53 °/o —

Cette expérience montre que l'annélation ne manifeste une action sensible que dans la partie isolée, supérieure, du rameau. La partie inférieure, qui reste en continuité avec la plante entière, ne subit aucune diminution de caféine.

Sur d'autres plantes, le 20 janvier, je pratique à la fois deux annélations sur chaque rameau, l'une vers le milieu et l'autre à la base, isolant ainsi de la plante la partie jeune en voie de croissance et la partie adulte du rameau. L'expérience a été cessée le 3 février et l'analyse a donné les résultats suivants :

| | | |
|---|---|---|
| Partie superieure annelée. . . . | 0.75 % | de caféine. |
| Témoin . . . . . . . . . . . . | 0.81 % | — |
| Partie inférieure annelée . . . . | 0.66 % | — |
| Témoin . . . . . . . . . . . . | 0.67 % | — |

Dans une autre expérience, j'ai obtenu des résultats analogues, mais elle n'a pu être prolongée comme je l'aurais voulu par suite du développement du Champignon parasite, l'*Hemileia vastatrix*, surtout abondant sur les parties annelées qui paraissaient manifestement moins résistantes.

Au cours de ces expériences d'annélations, dans le climat chaud et humide de Buitenzorg, il est nécessaire d'exercer une grande surveillance sur les plantes en expérience; car l'activité cambiale est très grande chez le *Coffea*, et à l'époque de l'année où j'opérais, c'est-à-dire au milieu de la mousson pluvieuse, il arrivait fréquemment qu'au bout de deux à trois semaines au plus, des ponts de liber s'étaient produits, réunissant les deux bords de l'incision distants de plus de 2 centimètres. Par ces ponts, les communications libériennes étaient rétablies, et en très peu de temps, une semaine environ, la proportion normale de caféine reparaissait dans le rameau qui avait été annelé. Dans les deux dernières expériences mentionnées plus haut, la réunion des libers venait de se produire, et c'est ce qui explique l'écart moins grand dans la teneur en caféine entre les rameaux annelés et les rameaux témoins.

Afin de voir si la caféine n'était pas formée dans les parties assimilatrices des feuilles pour être transportée vers l'extrémité et servir au développement du rameau, j'ai enlevé le sommet d'un certain nombre de rameaux annelés. L'expérience, commencée le 20 janvier, a été interrompue le 14 février. Par suite de l'ablation de la partie terminale, une certaine activité s'est manifestée dans les bourgeons situés à l'aisselle des paires de feuilles les plus proches du sommet. Ils ont été enlevés aussitôt, ainsi que ceux de la paire de feuilles suivante, et conservés pour l'analyse du rameau.

L'analyse a donné le résultat suivant :

| | | |
|---|---|---|
| Rameau annelé étêté . . . . . . | 0.55 °/₀ | de caféine. |
| — témoin . . . . . . . . | 0.63 °/₀ | — |

L'analyse du rameau témoin a été faite après en avoir enlevé l'extrémité jeune, afin qu'il fût comparable au rameau annelé au début de l'expérience. Quoique, par là, la proportion °/₀ d'alcaloïde ait été réduite, puisque c'est surtout la partie terminale qui est riche en caféine, on voit néanmoins que la proportion d'alcaloïde a diminué dans le rameau étêté et annelé chez lequel la croissance a été contrariée, et la production de caféine paraît être bien plus le résultat de la croissance du rameau que de l'assimilation des feuilles, comme le montre aussi l'expérience précédente avec deux annélations.

Des expériences analogues, entreprises sur de jeunes pieds de *Coffea liberica* âgés de 2 ans environ, dont j'enlevais la partie terminale ou dont j'isolais, par des annélations, différentes parties, m'ont donné les mêmes résultats. J'ai varié mes expériences de diverses façons, et jamais je n'ai pu provoquer l'augmentation de la proportion de caféine en empêchant le développement des parties jeunes, c'est-à-dire en mettant un obstacle à l'utilisation des matériaux plastiques résultant de l'assimilation.

De même, tous les essais tentés pour provoquer la réapparition de la caféine dans les feuilles qui n'en renfermaient plus n'ont donné aucun résultat. Ces essais pouvaient être tentés sur le *Coffea liberica,* dont les feuilles adultes ne contiennent plus d'alcaloïde. Dans le cas du *Pangium*, en supprimant la concurrence alimentaire entre les parties jeunes actives et les parties plus âgées de la plante par l'ablation des feuilles jeunes, Treub est parvenu à faire reparaître l'acide cyanhydrique dans les vieilles feuilles qui, normalement, en sont dépourvues.

La caféine se comporte d'une façon complètement différente. Elle ne reparaît pas lorsqu'on enlève les jeunes feuilles, elle ne s'accumule pas à la suite de l'annélation et ne disparaît pas à l'obscurité, comme le fait l'azote cyanhydrique du *Pangium edule.*

J'ai essayé également, mais sans résultat, de provoquer l'apparition de la caféine dans les feuilles adultes du Caféier de Libéria en produisant de nombreuses piqûres dans le parenchyme, ou en y faisant de multiples incisions.

*Annélations à l'obscurité.* — Les rameaux annelés laissés à l'air et à la lumière et pouvant assimiler, éprouvent, ainsi que nous venons de le voir, une diminution notable de la quantité d'alcaloïde qu'ils renferment. Mais si l'on supprime l'assimilation, en les mettant à l'obscurité, il n'en est plus de même.

Le 12 mars, deux rameaux annelés d'un pied de *Coffea arabicá* sont introduits dans un long cylindre en fer-blanc fermé à un bout et bien protégé contre les rayons du soleil. L'extrémité inférieure du cylindre est bouchée par un linge épais qui permet le facile renouvellement de l'air et évite ainsi une trop forte élévation de température. Ce dispositif avait été adopté à la suite d'un premier insuccès : si la fermeture est trop hermétique, l'humidité et la chaleur deviennent trop considérables et, en peu de jours, le rameau dépérit et est envahi par les moisissures. Après dix jours d'obscurité, l'expérience est interrompue. L'étiolement est faible, mais néanmoins la différence de teinte entre les rameaux obscurcis et les témoins est très manifeste. L'analyse de ces rameaux a donné :

| | | |
|---|---|---|
| Rameaux annelés à l'obscurité . | 0.94 °/₀ | de caféine. |
| — témoins . . . . . . . | 0.87 °/₀ | — |

Cette expérience, répétée deux fois, confirme les résultats obtenus avec les jeunes plantes mises à l'obscurité. La caféine ne disparaît pas et reste à peu près stationnaire, car la faible augmentation que l'obscurité semble provoquer provient de l'utilisation des réserves hydrocarbonées.

*Annélations à la lumière en l'absence d'anhydride carbonique.* — Dans l'expérience précédente, l'assimilation des rameaux annelés était empêchée par la mise à l'obscurité. J'ai voulu voir ensuite ce que devenait la caféine lorsqu'on empêchait l'assimilation des rameaux annelés, mais en les laissant à la lumière.

Pour cela, le rameau annelé était introduit dans une grande cloche en verre mince, supportée par des Bambous, et fermée par une plaque de zinc formant en quelque sorte couvercle et soigneusement lutée. Le rameau, maintenu par un bouchon en liège, passait au milieu de cette plaque. Deux autres ouvertures permettaient le passage de deux tubes de verre par lesquels se faisait le renouvellement de l'air dans la cloche. Dans celle-ci, deux capsules plates, contenant de la chaux sodée, étaient destinées à absorber rapidement l'acide carbonique dégagé par le rameau. Avant de pénétrer dans la cloche, l'air insufflé au moyen d'une poire en caoutchouc, devait barboter dans une solution concentrée de potasse caustique. Des branchages et une étoffe légère étaient disposés au-dessus de la cloche pour protéger le rameau contre l'action directe des rayons solaires.

Cette expérience ne peut se prolonger très longtemps. Au bout d'une dizaine de jours, quand toutes les précautions ont été bien prises, les feuilles commencent à montrer des signes de dépérissement plus ou moins accentués, et jamais, dans le climat de Buitenzorg, la durée ne peut dépasser quinze jours.

Une expérience, cessée après douze jours, du 13 au 25 février, m'a donné le résultat suivant :

| | | |
|---|---|---|
| Rameau annelé à la lumière sans $CO^2$ . . . | 0.96 °/₀ | de caféine |
| — témoin . . . . . . . . . . . . . | 0.63 °/₀ | — |

Ce résultat inattendu, cette augmentation considérable de la caféine dans le rameau annelé, demandait à être vérifié. Une nouvelle expérience a été mise en train au commencement de mars. Après dix jours, elle a été interrompue. L'analyse donne les résultats suivants :

| | |
|---|---|
| Rameau annelé à la lumière sans $CO^2$ . | 0.81 et 0.82 °/₀ de caféine. |
| — témoin . . . . . . . . . . . | 0.59 — |

Ainsi, manifestement, le rameau annelé à la lumière mais ne pouvant pas assimiler devient plus riche en caféine. Ce résultat est important, car il démontre que l'apparition de l'alcaloïde n'est pas liée à l'assimilation, et il confirme ainsi les recherches indiquées plus haut. Il semble bien que, sous l'influence de la lumière, une activité cellulaire tend à se manifester dans le rameau en expérience, pour laquelle une partie des matières albuminoïdes des cellules est utilisée. Pour le démontrer, j'ai dosé l'azote albuminoïde, par la méthode de Kjeldahl, dans les deux rameaux, après les avoir privés de la caféine par un traitement à l'alcool fort et chaud.

Ce dosage de l'azote albuminoïde m'a donné :

| | |
|---|---|
| Dans le rameau annelé. . . . | 2.34 °/₀ d'azote. |
| Dans le rameau témoin. . . . | 2.49 °/₀ — |

Il montre que l'augmentation de caféine a été accompagnée d'une diminution des albuminoïdes. L'inverse ne se produit pas dans les annélations ordinaires, où la diminution de la caféine n'est pas compensée par un gain en substances albuminoïdes, comme nous allons le voir dans les recherches suivantes sur le Thé.

### B. — *Thea sinensis* et *Thea assamica.*

Ces deux plantes, et surtout une forme hybride qui se rapproche beaucoup par ses divers caractères du Thé d'Assam, sont cultivées pour la préparation du thé. Dans la culture, elles affectent une forme spéciale. Tandis qu'à l'état naturel les *Thea* sont des arbres qui peuvent atteindre une certaine hauteur, de 8 à 10 mètres environ, dans les plantations, ils restent de petits arbustes très touffus, très ramifiés, hauts de 75 centimètres à 1m,50, par suite de la taille qu'on leur fait subir. Chaque arbuste porte une quantité de petits rameaux qui, pour une même plante, sont généralement très comparables entre eux quant à leur teneur en caféine. D'une plante à l'autre, la proportion d'alcaloïde peut varier beaucoup, et c'est pourquoi j'ai eu soin de ne jamais comparer des rameaux appartenant à des plantes différentes. Dans mes diverses recherches, les rameaux témoins étaient choisis le plus semblables possible aux rameaux en expérience et appartenaient toujours non seulement à la même plante, mais encore à la même branche principale.

*Germination.* — Les graines du Thé, qui sont assez volumineuses, plus ou moins sphériques, ne contiennent pas d'alcaloïde, comme nous l'avons dit déjà. Parfois on arrive à en déceler des traces, mais il est très possible qu'elles proviennent alors d'impuretés, de débris, de restes du péricarpe, qui est assez riche en caféine.

Un premier lot de graines de *Thea sinensis*, semées en terre dans une caisse placée dans un endroit très ombragé, m'a donné un certain nombre de plantules qui furent arrachées très soigneusement avec la racine, lorsqu'elles eurent atteint environ 10 centimètres de hauteur et que les premières feuilles commencèrent à se développer et à verdir. Les deux cotylédons volumineux sont séparés de la plantule et analysés à part. Les dosages de caféine ont donné le résultat suivant :

| | |
|---|---|
| Plantules à la lumière . . | 0.62 °/₀ de caféine. |
| Cotylédons . . . . . . . | 0.013 °/₀ de caféine très impure. |

Un autre lot de graines de *Thea sinensis*, semées en terre dans une caisse en même temps que le lot précédent, a été placé à l'obscurité. L'analyse des plantules a été faite quelques jours plus tard. Elle m'a donné le résultat suivant :

| | |
|---|---|
| Plantules à l'obscurité . . . | 0.77 °/₀ caféine. |
| Cotylédons . . . . . . . . | traces. |

Ainsi donc, la caféine, qui n'existe pas dans la graine du *Thea*, apparaît dans la jeune plante en quantité considérable. Les cotylédons n'en renferment que des traces provenant très probablement des tissus qui les rattachent à la jeune plante. La valeur indiquée dans la première analyse, 0.013 °/₀, s'applique à un produit très impur. Dans les dosages suivants, j'ai débarrassé la caféine des cotylédons de ses impuretés, et j'ai pu constater qu'elle se trouvait en proportion excessivement faible et insuffisante pour être dosée avec certitude.

Pour vérifier si la caféine qui se forme dans la germination et s'accumule dans la plantule n'est pas utilisée ultérieurement, lorsque la jeune plante commence à croître et à assimiler activement, j'ai mis à germer en terre, dans une caisse, cent graines de *Thea assamica*. J'ai laissé d'abord les plantules se développer à l'obscurité, et lorsqu'elles eurent atteint une hauteur de 10 à 15 centimètres, j'en ai arraché une partie avec soin. Elles étaient complètement privées de chlorophylle, mais elles ne manifestaient, comme le *Coffea*, qu'un allongement assez faible de l'hypocotyle et des entrenœuds. Les plantules restant dans la caisse furent alors exposées à la lumière pendant deux semaines. La croissance étant rapide chez le Thé, les jeunes plantes avaient pu étaler leurs premières feuilles et en former de nouvelles : elles étaient devenues vertes très rapidement.

L'analyse de ces plantules avant et après l'action de la lumière a donné les chiffres suivants :

| | |
|---|---|
| Plantules étiolées . . . . . . . . . . . . . . . | 1.15 °/₀ de caféine. |
| — — mises ensuite à la lumière. | 1.00 °/₀ — |

Les cotylédons, dans les deux cas, ne renfermaient que des traces d'alcaloïde.

Ici, comme chez le *Coffea*, la faible diminution dans la proportion de caféine dans les plantes ayant assimilé est due à l'augmentation de poids de la matière sèche de chaque pied par suite de l'assimilation. En réalité, la quantité totale d'alcaloïde que contient chaque plantule ne diminue pas et va, au contraire, en augmentant. Malheureusement, je ne puis ici indiquer la valeur exacte de l'augmentation, n'ayant pu, comme avec le *Coffea*, déterminer exactement le poids de matière sèche laissée par un même nombre de plantes de chaque lot.

Néanmoins, ces recherches confirment les résultats fournis par les graines du Caféier; il se forme de la caféine pendant la germination, et celle-ci n'est pas utilisée pour le développement de la plantule, soit à la lumière, soit à l'obscurité.

*Mise à l'obscurité.* — Une plante entière de *Thea sinensis*, bien vigoureuse et de dimension moyenne, choisie dans la plantation de Thé du *Cultuurtuin*, fut recouverte sur place d'une grande caisse en bois, le 14 décembre, au commencement de l'après-midi, après une matinée bien ensoleillée. Au moment de la mise en expérience, j'ai prélevé quinze jeunes rameaux à cette plante, coupés tous à un même niveau, repéré avec soin. Le 25 décembre, la caisse est enlevée. L'étiolement est très peu marqué chez la plante : la teinte des parties adultes ne s'est guère modifiée et, seules, les extrémités des rameaux qui se sont légèrement développées, mais sans allongement des entre-nœuds, présentent une teinte rougeâtre. Je coupe un certain nombre de rameaux au même entre-nœud où j'avais cueilli les rameaux témoins lors de la mise en expérience.

Cent rameaux non obscurcis donnent

74,52 grammes mat. sèche contenant 1,09 °/₀ de caféine.

Cent rameaux à l'obscurité donnent

72,93 grammes mat. sèche contenant 1,33 °/₀ de caféine.

Par conséquent, il n'y a aucune diminution de la caféine à l'obscurité, et elle semble même, d'après ces chiffres, augmenter un peu.

La même expérience a été recommencée avec une autre plante de *Thea sinensis*, dans les premiers jours de janvier. Mais il y eut, à ce moment, une série de journées excessivement chaudes, sans nuages; et quand, au bout d'une semaine, j'ai voulu m'assurer de l'état de la plante, je l'ai trouvée morte, avec toutes ses feuilles desséchées, brunes, jonchant le sol. J'ai néanmoins fait le dosage de la caféine dans ces feuilles mortes. Elles en contenaient encore 1,61 °/₀. Les rameaux témoins, pris au moment de la mise en expérience, renfermaient 1,59 °/₀ de caféine.

*Influence des aliments azotés sur la teneur en caféine.* — J'ai eu recours, pour rechercher l'influence que les sels azotés pouvaient exercer sur la teneur en caféine de la plante de Thé, à des rameaux plongeant dans des solutions nutritives. Ces rameaux me paraissaient très convenables pour ce genre d'expériences, par suite de leur grand nombre sur un même pied, de leur disposition, de leur résistance et de leur croissance rapide.

Au point de vue de leur teneur en alcaloïde, les plantes de Thé, comme les Caféiers, présentent entre elles de très grandes différences, et il est donc indispensable, dans les expériences comparatives, de ne se servir que de rameaux provenant tous d'une même plante. Ceux-ci étaient toujours coupés sous l'eau, précaution très utile pour conserver les rameaux frais plus longtemps; et chaque jour, lorsqu'ils plongeaient dans les solutions nutritives, je faisais une nouvelle section à la base de chacun d'eux, afin d'éviter l'obstruction des vaisseaux par les particules en suspension dans l'eau. Pour empêcher un envahissement par des microbes, les liquides étaient renouvelés tous les deux ou trois jours.

Il me semblait qu'en affamant d'azote les rameaux de Thé, j'allais pouvoir constater la disparition de la caféine. Dans une première série d'expériences, faites avec *Thea sinensis* et *Thea assamica*, les rameaux plongeaient dans un liquide de Sachs avec et sans nitrate de potassium. Ils étaient placés en dehors du laboratoire, mais à l'abri des rayons directs du soleil. Une première série est analysée après neuf jours, et une seconde série a été laissée quinze jours. Le dosage de la caféine dans les divers échantillons a donné les résultats suivants :

| | Avec N. | Sans N. |
|---|---|---|
| *Thea sinensis* après neuf jours. . . . | 1,75 °/₀ | 1,63 °/₀ |
| — après quinze jours. . . | 1,93 °/₀ | 1,56 °/₀ |
| *Thea assamica* après neuf jours . . . | 1,00 °/₀ | 0,83 °/₀ |
| — après quinze jours . . | 1,33 °/₀ | 1,19 °/₀ |

La proportion de caféine semble avoir augmenté dans les rameaux analysés après quinze jours, mais cette teneur plus forte est due à ce que beaucoup de feuilles adultes étaient tombées et à ce que je n'ai soumis à l'analyse que les extrémités des rameaux.

L'ensemble de ces résultats montre que la privation d'aliment azoté n'occasionne qu'une faible diminution de la caféine, due à ce que l'assimilation des matériaux hydrocarbonés a seule pu se continuer, et non à un arrêt de la croissance. J'ai tenu à m'assurer qu'il y avait réellement eu assimilation, en prenant chaque jour le poids des rameaux placés dans les liquides nutritifs. Celle-ci est très active pendant quatre ou cinq jours, puis elle se ralentit rapidement. La transpiration des rameaux suit une marche analogue, ainsi que j'ai pu le constater en déterminant chaque jour la quantité de liquide évaporé.

D'un autre côté, j'ai recherché quel était le milieu nutritif, quel était l'aliment azoté qui convenaient le mieux aux rameaux de Thé. Le nitrate d'ammonium m'a paru devoir mériter la préférence; et, dans l'expérience suivante, des rameaux de *Thea sinensis* sont restés pendant huit jours dans une solution nutritive avec et sans nitrate d'ammonium.

A l'analyse, j'ai trouvé :

| | | |
|---|---|---|
| Rameaux dans la solution avec azote. . . . | 1,59 °/₀ | de caféine. |
| — — sans azote. . . . | 1,35 °/₀ | — |

Enfin, pour augmenter l'assimilation des rameaux, ceux-ci ont été placés dans une grande caisse vitrée, de 80 centimètres de côté environ, exposée en pleine lumière, et dans laquelle je produisais un dégagement lent et continu d'anhydride carbonique. L'expérience a duré six jours, pendant lesquels elle a été surveillée de très près, un premier essai ayant échoué à cause de l'action trop directe des rayons du soleil. Les rameaux qui provenaient d'une même plante de *Thea sinensis* plongeaient, les uns dans la solution azotée au nitrate d'ammonium, une autre série dans la solution nutritive privée d'azote et une troisième dans de l'eau distillée. A l'analyse, ces divers rameaux contenaient :

| | | |
|---|---|---|
| En liquide azoté . . . . . . . . | 1,25 °/₀ | de caféine. |
| — non azoté . . . . . . | 1,16 °/₀ | — |
| Dans l'eau distillée . . . . . . . | 1,29 °/₀ | — |

De tous ces résultats, ainsi que d'autres analogues, il semble bien que la quantité de caféine n'est pas directement influencée par la présence ou l'absence des aliments azotés et ne peut suppléer à leur absence. En d'autres termes, elle ne constitue pas une réserve azotée pour la plante et ne représente pas un stade transitoire dans l'assimilation de l'azote, dans sa transformation en matières albuminoïdes.

Un excès d'aliment azoté n'augmente pas la proportion de caféine dans la plante. Ce fait est confirmé par des analyses de M. Van Romburgh qui a examiné des plantes de *Thea* poussant dans un sol soigneusement fumé, et d'autres cultivées dans un sol excessivement pauvre en azote. La richesse de ces plantes était la même; seulement, la quantité de feuilles récoltées étant infiniment plus considérable avec les plantes bien nourries, on retirait par la récolte un poids total de caféine plus grand, quoique sa proportion, dans les feuilles, restât la même.

*Expériences d'annélations.* — Ces expériences donnent les mêmes résultats que chez les Caféiers; mais comme l'activité vitale des rameaux du Thé est très grande, la diminution de la caféine est généralement plus forte ici. A la suite de l'incision annulaire, il se manifeste assez rapidement un ralentissement de la croissance. Après trois semaines, le rameau annelé commence à devenir chlorotique, anémié, et se reconnaît avec la plus grande facilité. Il s'est peu allongé, tandis que le rameau témoin a considérablement grandi.

Le 8 janvier, des rameaux annelés vers le 20 décembre sont cueillis sur une plante de *Thea sinensis*. Un nombre égal de rameaux témoins est prélevé de manière qu'ils aient le même nombre de feuilles que les rameaux annelés. Le dosage de l'alcaloïde a donné :

| | | |
|---|---|---|
| Rameaux annelés . . . . . | 0,86 °/₀ | de caféine. |
| — non annelés . . . | 1,37 °/₀ | — |

Le 12 janvier, j'ai dosé l'alcaloïde dans d'autres rameaux annelés et non annelés d'une plante de *Thea assamica* mise en expérience en même temps que la plante de Thé de Chine indiquée ci-dessus. L'analyse a donné :

| | | |
|---|---|---|
| Rameaux annelés . . . . . | 0,44 °/₀ | de caféine. |
| — non annelés . . . | 0,62 °/₀ | — |

Le 20 février, je prends des rameaux à une plante de *Thea sinensis* sur laquelle les incisions annulaires avaient été faites au commencement de janvier. Les rameaux annelés se sont peu allongés ; ils se sont fortement lignifiés et se sont garnis de nombreux boutons floraux. Chez beaucoup de ces rameaux la chlorose était très accentuée. Le résultat de l'analyse a été le suivant :

| | | |
|---|---|---|
| Rameaux annelés . . . . . . | 0.34 °/₀ | de caféine. |
| — non annelés . . . . | 0.86 °/₀ | — |

Dans ces expériences, je prélevais les rameaux témoins de façon à ce qu'ils aient le même nombre de feuilles ou la même longueur que les rameaux annelés.

Dans l'expérience suivante, au contraire, au moment des annélations sur une plante de *Thea sinensis*, j'ai marqué par un bout de fil, sur les rameaux témoins, l'entre-nœud correspondant à celui où je faisais l'incision annulaire. De cette façon tous les rameaux pouvaient être supposés identiques au début de l'expérience commencée le 19 février. Ils sont coupés le 7 mars. Les rameaux témoins se sont fortement allongés, ont presque doublé de longueur. Le dosage de la caféine donne :

| | | |
|---|---|---|
| Rameaux annelés . . . . . . | 0.88 °/₀ | de caféine. |
| — non annelés . . . . | 1.25 °/₀ | — |

Il résulte donc nettement de toutes ces expériences que l'annélation provoque une diminution très notable de l'alcaloïde.

Cette diminution pouvait provenir de l'utilisation d'une partie de la caféine et de sa transformation en matières albuminoïdes. Afin de vérifier la valeur de cette supposition, j'avais réservé une partie des matériaux de cette dernière expérience pour le dosage de l'azote total, par la méthode de Dumas, qui m'a donné les résultats suivants :

| | | |
|---|---|---|
| Rameaux annelés . . . . . . . | 1.94 | azote total. |
| — non annelés . . . . . | 2.68 | — |

Ces chiffres montrent l'énorme différence qui existe entre l'azote total des deux sortes de rameaux, et cette différence est tout à fait en rapport avec la proportion de caféine qu'ils contiennent. En effet, la caféine varie dans la proportion de 0.88 à 1.25, c'est-à-dire de 1 à 1.38; et l'azote total dans la proportion de 1.94 à 2.68, c'est-à-dire de 1 à 1.42.

Le dosage de l'azote albuminoïde par la méthode de Kjeldahl, après séparation de la caféine, indique également une forte diminution de cet azote. D'après les calculs de M. Lohmann, assistant au laboratoire, qui avait eu l'obligeance de se charger du dosage de l'ammoniaque, l'azote albuminoïde varie dans la proportion de 32.5 dans les rameaux annelés, à 51.5 dans les rameaux témoins.

Par conséquent, non seulement l'azote alcaloïdique diminue dans le rameau à la suite de l'annélation, mais aussi, et dans des proportions identiques, l'azote total et l'azote albuminoïde.

Nous avons vu, à propos du *Coffea*, que dans un rameau annelé, placé dans une cloche à la lumière mais privé d'anhydride carbonique, il y avait augmentation de la quantité de caféine. La même expérience a été faite avec une plante de *Thea assamica* servant de porte-graine et que, pour cette raison, on laisse se développer normalement. J'ai choisi, sur cette plante, une branche assez vigoureuse qui, sur son trajet, se bifurquait en deux autres branches assez ramifiées. L'une a été annelée et mise dans la cloche en suivant les précautions indiquées à propos du *Coffea*. L'autre branche a été conservée comme témoin.

La croissance de cette plante, déjà âgée, n'était plus très active. En outre, à cause du dispositif de l'expérience, j'avais dû choisir un des rameaux inférieurs, et comme la plante atteignait plusieurs mètres de hauteur, la plus grande vitalité se manifestait surtout dans les branches supérieures. Quoi qu'il en soit, le rameau en expérience avait néanmoins conservé une faible activité, car un léger commencement de cicatrisation s'était manifesté au bord supérieur de l'incision.

L'expérience faite à la fin de mars a duré onze jours. L'analyse de la caféine a donné les chiffres suivants :

| | | |
|---|---|---|
| Rameaux annelés sans $CO^2$ . . . | 0,62 °/₀ | de caféine. |
| — témoins . . . . . . . | 0,58 °/₀ | — |

La différence est faible dans cette expérience, qui n'aurait rien de probant si elle ne concordait avec les expériences analogues sur les *Coffea*.

Pendant le mois d'avril, j'ai voulu recommencer une nouvelle expérience sur une autre plante de Thé, mais j'étais à la fin de mon séjour à Buitenzorg, et je n'ai pu, faute de temps, la surveiller convenablement pour en faire l'analyse.

## IV

### Signification et rôle des alcaloïdes.

L'ensemble des résultats fournis par nos recherches sur les *Coffea* et *Thea*, décrites au chapitre précédent, peut se résumer en quelques points essentiels. La caféine se forme dès le début de la germination et s'ajoute à celle qui peut préexister (*Coffea*); elle ne disparaît plus, et sa proportion ne cesse d'augmenter, au cours du développement de la plantule et de la jeune plante. On la retrouve toujours en proportion la plus considérable dans les parties de la plante où se manifeste une grande activité cellulaire, c'est-à-dire à l'extrémité de tous les jeunes rameaux en voie de croissance. C'est en ces endroits qu'elle se forme, et non pas dans les organes d'assimilation, dans les feuilles. Elle ne peut servir directement d'aliment azoté pour la plante. Enfin, lorsque, par suite des incisions annulaires, une diminution de la caféine se manifeste dans les rameaux, celle-ci ne correspond pas à une augmentation des substances albuminoïdes; tandis que si on provoque dans ces rameaux une augmentation de la quantité d'alcaloïde par la privation d'anhydride carbonique en présence de lumière, on constate une disparition concomitante d'une partie des matières albuminoïdes.

De tous ces faits, nous croyons pouvoir conclure que la caféine n'est pas un produit direct de l'assimilation, qu'elle ne représente pas un stade transitoire dans la synthèse des albuminoïdes, mais qu'elle provient au contraire du phénomène inverse, de la destruction des matières azotées complexes, qui se manifeste dans toute activité cellulaire. En d'autres termes, ce n'est pas une substance d'élaboration, une substance plastique, mais un produit de régression qui ne peut mieux être assimilé qu'à l'acide urique, si répandu dans tout le règne animal.

La caféine constitue donc un *déchet* de l'activité cellulaire, c'est-à-dire un produit résultant de la mise en œuvre de matériaux utiles et qui ne peut plus servir d'emblée au même but. Le déchet n'est pas une chose sans valeur, inutile; il peut être employé à nouveau, généralement, mais après avoir subi une certaine préparation ou une certaine transformation.

Pour divers auteurs, le terme de déchet, employé en physiologie, impliquerait que la substance est devenue inutilisable et ne représente plus aucun profit pour l'organisme qui l'a produite. Il n'en est rien ; et chez la plante surtout, le déchet peut être très utile. C'est ainsi que pour toutes les plantes vertes, l'anhydride carbonique est à la fois l'aliment carboné essentiel et un *déchet* produit par la respiration, par l'oxydation des matériaux organiques de la cellule. Cet acide carbonique déchet peut néanmoins rentrer immédiatement dans le cycle de l'assimilation ; sans sortir de la plante qui vient de le produire comme un déchet, il peut redevenir de suite aliment et servir à la synthèse de nouvelles molécules organiques complexes.

Mais le carbone n'est pas le seul élément de la plante présentant cette particularité remarquable. Nous pouvons considérer, pour les autres éléments qui entrent dans la constitution des végétaux, un cycle analogue. L'azote, puisé par les racines dans le sol, pénètre dans la plante sous forme de nitrates ou de composés ammoniacaux. Malgré cette double origine, les différents états sous lesquels il se présentera au cours du métabolisme cellulaire seront identiques ; nitrique ou ammoniacal, il se transformera immédiatement en composés organiques peu complexes, acide cyanhydrique (*Pangium*), asparagine, etc., et il servira à la synthèse des composés albuminoïdes qui entrent dans la composition des diverses parties du cytoplasme. Mais la respiration ne porte pas uniquement sur les matières hydrocarbonées. Une partie des composés quaternaires et cytoplasmiques est également oxydée, subit des écroulements, comme les substances ternaires, et de ce morcellement résulte, à notre avis, l'apparition des alcaloïdes. Ceux-ci, à leur tour, pourront subir de nouvelles transformations qui les ramèneront à l'état de molécules plus simples, ammoniacales peut-être, aptes à rentrer immédiatement dans l'assimilation et fermant ainsi le cycle de l'azote dans la plante.

Le soufre, le phosphore offrent des transformations analogues, mais plus simples. Absorbés sous forme de sulfates et de phosphates, ils entrent dans la composition des molécules protéiques complexes, et lorsque celles-ci se détruisent, ils reparaissent comme sulfates et phosphates, ainsi que l'a constaté Belzung (1), et sont susceptibles, sans aucun doute, d'être de nouveau repris dans l'assimilation.

En esquissant le cycle de l'azote dans la plante, nous avons pu, par là, indiquer la place que, selon nous, la caféine doit y occuper. Elle représente l'une des phases de la régression des substances protéiques, et c'est dans ce sens que nous la considérons comme un déchet, capable de subir à son tour des modifications ultérieures qui, probablement, ramèneront les atomes d'azote à une forme plus directement assimilable.

Cette transformation, cette disparition de la caféine, se manifeste nettement chez le *Coffea liberica*, où l'alcaloïde n'existe plus dans les feuilles adultes, beaucoup plus vigoureuses que celles du *Coffea arabica*.

Il y a un grand avantage pour la plante à ce qu'il en soit ainsi. Car les végétaux ne possèdent pas d'appareils d'excrétion comme les animaux. Ils ne peuvent expulser au dehors les substances résiduelles liquides ou solides qui se produisent en eux; et si l'accumulation de ces substances est de nature à nuire au bon fonctionnement de la cellule, il est non seulement utile, mais même absolument indispensable qu'elles disparaissent, à moins que la plante ne puisse les emmagasiner dans des cellules spéciales où elles ne seront plus une gêne aux échanges nutritifs.

---

(1) Belzung, *Recherches chimiques sur la germination.* (Ann. d. sc. nat., botanique, 1892 [7], t. XV, p. 203.)

Si, par l'exemple du Caféier de Liberia, nous avons une preuve de la disparition de la caféine, il ne nous a pas été possible dans nos recherches de déterminer sous quelle forme elle disparaissait. Il ne semble pas qu'une substance azotée plus simple s'accumule consécutivement dans les feuilles; et c'est pourquoi, d'après l'ensemble de nos recherches, nous sommes porté à admettre que la caféine se transforme sans doute en produits directement assimilables et qui, pour cette raison, sont utilisés dès qu'ils se produisent.

On pourrait déduire qu'elle est, de ce fait, un aliment pour la plante, et trouver inexacte la dénomination de déchet que nous lui avons attribuée. Il n'en est rien cependant. La caféine, pour être utilisée à nouveau, pour redevenir en quelque sorte un aliment, doit subir une transformation profonde, nécessite une mise en jeu d'énergie plus grande que sa destruction n'en apporte. Elle ne représente donc qu'un aliment excessivement coûteux, que la plante n'utilise que parce qu'elle peut gaspiller de l'énergie et parce qu'une accumulation pourrait devenir préjudiciable. De plus, cette destruction de l'alcaloïde ne se manifeste qu'au cours du développement normal de la plante. Expérimentalement, on ne l'obtient pas. C'est pour cette raison, sans doute, que tous les essais de nutrition des plantes au moyen de solutions de caféine ont échoué, et qu'elle ne peut être utilisée, comme aliment azoté, par aucune plante supérieure (1). Conclure que, par suite de sa disparition et de sa réutilisation probable chez le Caféier ou le Thé, elle constitue un véritable aliment, est tout aussi dérisoire que vouloir faire rentrer l'alcool parmi les aliments de l'homme, sous prétexte que l'organisme est capable de le détruire et profite par là d'une certaine quantité d'énergie. Il faut s'assurer avant tout de ce qu'a pu coûter cette énergie.

---

(1) Pfeffer, *Pflanzenphysiologie*, II$^{te}$ Auflage, 1897, p. 399.

Il semble étrange, à première vue, qu'une substance aussi riche en azote que la caféine soit un déchet pour la plante, et l'on comprend que les auteurs qui se sont occupés du rôle de cette substance aient été portés, *a priori*, à la considérer comme un aliment. Avant de commencer mes recherches, je partageais également cette dernière opinion que les résultats de toutes mes expériences m'ont forcé à abandonner. Pour Kellner (1), la caféine est une substance plastique. Il arrive à cette conclusion, non pas à la suite de véritables recherches physiologiques, mais en comparant les chiffres obtenus dans l'analyse des feuilles de Thé cueillies régulièrement le 1<sup>er</sup> et le 15 de chaque mois, pendant toute la période de végétation de la plante au Japon. En ce qui concerne les composés azotés, Kellner constate ainsi que la proportion de caféine, qui était de 2.85 °/₀ le 15 mai, quand le rameau commence à peine à se développer, tombe à 1 °/₀ le 30 novembre, lorsqu'il a pris un allongement considérable. Il attribue cette diminution à une utilisation, et pour le démontrer, dans un autre tableau, il ramène les proportions relatives d'azote albuminoïde et d'azote alcaloïdique par rapport à cent parties d'azote total contenues dans les différentes récoltes de feuilles. D'après ce tableau, il semble, à première vue, absolument manifeste que la diminution d'alcaloïde est compensée par une augmentation d'albumine. Mais pour qu'il en soit réellement ainsi, il faudrait que tous les atomes d'azote gagnés par les substances albuminoïdes vinssent directement des molécules de caféine. Or, pendant leur croissance, les feuilles ont assimilé des atomes d'azote venus du sol, et l'augmentation de la quantité des matières albuminoïdes peut s'expliquer, et s'expliquera beaucoup mieux, par cet apport d'azote venu du sol. D'autant plus qu'on ne peut guère considérer, comme ayant diminué, une substance dont la proportion tombe de 2.85 °/₀ à 1 °/₀ dans un rameau qui, de son côté, augmente au cours de son développement dans une proportion inverse infiniment plus considérable. Au lieu de prendre les quantités relatives des diverses substances, Kellner aurait dû, dans ce cas, déterminer les quantités totales par plante ou par rameau et voir si, dans ces conditions, la plante a gagné ou perdu de l'alcaloïde au cours de son développement.

---

(1) O. Kellner, *Die Zusammensetzung der Theeblätter in verschiedenen Vegetationsstadien*. (Die landwirth. Versuchs-Stationen, 1887, Bd XXXIII, p. 370.)

Deux autres travaux, dont nous avons déjà fait mention, ont également eu en vue de déterminer le rôle de la caféine. C'est d'abord la note de Heckel (1), et ensuite le travail de Gaucher (2) qui confirme les conclusions de Heckel et considère la caféine comme un aliment pour la plante. Nous avons démontré, par nos recherches sur la germination des graines de *Coffea* et de *Thea* (pp. 44 et 56), que les résultats de ces auteurs ne peuvent plus être acceptés et que leur conclusion n'est pas en rapport avec ce qui se passe en réalité.

De nos expériences, ainsi que de l'examen critique des résultats de Kellner, nous pouvons conclure que la caféine représente chez la plante un produit de régression, un déchet de l'activité cellulaire.

Déjà, dans un travail antérieur (3), nous étions arrivé à une conclusion semblable au sujet de la signification des autres alcaloïdes. Nos « premières recherches » aboutissaient à ce résultat et concordaient avec l'opinion de Sachs (4). Dans des études ultérieures, et surtout dans les expériences entreprises sur le Caféier et le Thé qui viennent d'être décrites, cette interprétation du rôle des alcaloïdes s'est confirmée de nouveau. Pfeffer (1) l'adopte également et tient, comme nous, les bases végétales pour des déchets, utilisés secondairement pour la protection de la plante.

---

(1) HECKEL, *loc. cit.*

(2) GAUCHER, *loc. cit.*

(3) ERRERA, MAISTRIAU et CLAUTRIAU, *Premières recherches sur la localisation et la signification des alcaloïdes dans les plantes.* (JOURN. DE LA SOC. R. DES SC. MÉD. ET NAT. DE BRUXELLES, 1887, ou RECUEIL DE L'INSTITUT BOTANIQUE DE BRUXELLES, t. II.)

(4) SACHS, *Vorlesungen über Pflanzenphysiologie,* 1882, p. 396.

Mais quelques auteurs ne peuvent encore se résoudre à admettre cette conclusion et rangent les alcaloïdes parmi les aliments de la plante. Heckel, le premier, a tenté d'en faire la démonstration expérimentale, et ses recherches, qui n'ont jamais été que très sommairement décrites, sont toujours invoquées comme argument principal par les partisans de cette dernière théorie. Nous avons montré plus haut que ses résultats, en ce qui concernait la caféine, étaient inexacts. D'autre part, dans un travail antérieur (2), nous avons également établi que l'alcaloïde contenu dans les graines de *Datura Stramonium* ne pouvait guère être considéré comme une réserve, par suite de sa localisation très spéciale; qu'en outre, il n'était pas nécessaire à la germination; et qu'enfin, dès le début du développement de la plantule, on observait non une utilisation mais, au contraire, une production d'alcaloïde.

Cette production nouvelle de base végétale au cours de la germination, facile à vérifier microchimiquement, infirmait complètement la conclusion de Heckel, qui néanmoins a été reprise par Barth (3). Cet auteur base son opinion sur une expérience qu'il a faite avec des graines de *Datura Stramonium* et de *Conium maculatum ;* cette dernière plante, toutefois, ne lui a pas donné de résultats précis. Barth partage en quatre lots égaux une certaine quantité de graines de Stramoine. Les lots 1 et 2 ont été soumis directement à l'analyse, tandis que les lots 3 et 4 ont été préalablement mis à germer sur de la porcelaine maintenue humide. Les deux tiers des graines du lot 3 germèrent tandis que la germination se produisit chez toutes les graines du lot 4. A l'analyse, Barth trouve, dans les deux premiers lots de graines, respectivement 0,060 et 0,061 d'alcaloïde; dans le troisième, il n'en trouve plus que 0,012 et dans le quatrième seulement 0,004. Ce résultat serait tout à fait probant, si l'auteur avait eu soin de s'assurer si les graines de *Datura Stramonium*, maintenues humides et placées sur de la porcelaine humectée d'eau, ne perdent, par diffusion dans la porcelaine, aucune trace d'alcaloïde. Or, nous avons appelé l'attention sur la localisation très particulière du principe actif dans ces graines et sur la facilité avec laquelle on peut les débarrasser de leur alcaloïde par de simples lavages à l'eau. Dans des expériences de germination, ce point est d'une importance capitale, car tout porte à admettre que, dans l'expérience de Barth, l'alcaloïde des graines a diffusé dans l'eau humectant la porcelaine et que la forte diminution que l'auteur a constatée n'est pas le fait d'une utilisation par la jeune plantule (1). Les chiffres donnés plus haut permettent déjà de le supposer : le lot 3, dont les deux tiers des graines seulement avaient germé, ne renferme plus, néanmoins, que 0,012 d'alcaloïde, alors que, normalement, d'après la teneur des lots 1 et 2, les graines n'ayant pas germé de ce lot devaient déjà en fournir, pour leur part, 0,020 à l'analyse. L'auteur ne s'étonne pas de cette anomalie (qui démontre que même sans germer la graine perd de l'alcaloïde), et il n'explique pas non plus comment il se fait que dans deux lots très semblables de graines, supposés placés dans des conditions identiques, l'un germe complètement et l'autre ne donne que deux tiers de germinations. Sans faire aucune expérience de contrôle, sans discuter les causes d'erreur, et malgré que l'expérience avec les graines de *Conium maculatum* lui ait donné des résultats moins probants, Barth conclut que les alcaloïdes servent à la synthèse des matières albuminoïdes, quoique, dans certains cas, ils jouent cependant, dit-il, le rôle de déchets.

---

(1) Pfeffer, *Pflanzenphysiologie,* II$^{te}$ Auflage, 1897, p. 499.

(2) G. Clautriau, *Localisation et signification des alcaloïdes dans quelques graines.* (Ann. de la Soc. belge de microscopie, 1894, t. XVIII, p. 35, ou Recueil de l'Institut botanique de Bruxelles, t. II.)

(3) H. Barth, *Studien über den mikrochemischen Nachweis von Alkaloïden in pharmaceutisch verwendeten Drogen.* (Botanisches Centralblatt, 1898, Bd LXXV, p. 225.)

---

(1) Une perte d'alcaloïde par diffusion peut se constater dans beaucoup de graines. Je l'ai observée même avec les graines de *Coffea*, où le principe actif est contenu dans les cellules de l'albumen aux parois très épaisses. Des graines qui n'avaient plus leur pouvoir germinatif, laissées deux mois entre des feuilles de papier buvard humide, avaient perdu plus du tiers de leur caféine (voir p. 45).

Un alcaloïde un peu spécial en ce qu'il est à la fois glycoside et alcaloïde, la solanine, a été l'objet de recherches physiologiques au sujet de son rôle dans les végétaux qui en renferment. Albo (1), reprenant l'opinion de Boussingault (2) qui avait dit que « dans les germes de la Pomme de terre la solanine paraît remplacer l'asparagine », la considère comme un aliment pour la plante, et rappelle que Dehérain (3) en fait la forme de voyage des matières albuminoïdes.

Albo s'est surtout occupé des germinations d'un certain nombre de graines de Solanacées, et il s'est efforcé de déterminer microchimiquement le sort de la solanine au cours du développement de la plantule.

Il a constaté que, pendant la première période de la vie de la plante, l'alcaloïde disparaissait peu à peu, aussi bien à la lumière qu'à l'obscurité, ou que dans une atmosphère privée d'anhydride carbonique, comme s'il constituait une réserve nutritive. Il a remarqué en même temps que, plus tard, il reparaissait au cours du développement normal de la jeune plante à la lumière, alors que se manifestait l'assimilation du carbone et l'élaboration des matériaux hydrocarbonés de réserve. Il admet donc que la solanine est un véritable produit de réserve et que sa présence dans les tissus des Solanacées est étroitement liée au processus d'assimilation.

---

(1) ALBO, *Sulla funzione fisiologica della* Solanina. (Estratto da A. BORZI, *Contrib. Biolog. veget.*, 1899, vol. II, fasc. III.)

(2) BOUSSINGAULT, *De la végétation dans l'obscurité.* (ANN. DES SC. NAT., BOTANIQUE, 1864 [5], t. I. p. 323.)

(3) DEHÉRAIN, *Nutrition de la plante. Chimie agricole.* (ENCYCLOPÉDIE CHIMIQUE DE FRÉMY, 1885, t. X, fasc. VIII, p. 22.)

Ces conclusions d'Albo sont en contradiction complète avec les nôtres au sujet du rôle des autres alcaloïdes, et elles ne concordent pas entièrement avec celles de Molle (1), qui considère également les différents alcaloïdes des Solanacées comme des déchets. Elles se basent sur des obervations microchimiques, dont les résultats négatifs ne peuvent pas toujours être acceptés sans contrôle macrochimique. En effet, l'intensité de la réaction microchimique est en raison de la concentration de l'alcaloïde; de sorte que, très forte dans les cellules de la graine, pauvres en eau, elle diminuera progressivement à mesure que les cellules vont absorber du liquide et que la plantule se développera. Il pourra donc en résulter que les réactions microchimiques ne se produiront plus dans les cellules prises individuellement, alors que la totalité de ces cellules contiendra pourtant la même quantité d'alcaloïde que renfermaient les graines.

Lorsque les plantules étiolées sont ensuite placées dans des conditions normales et peuvent assimiler, Albo constate que l'alcaloïde reparaît. En effet, par le fait de l'assimilation, l'activité cellulaire s'exagère aux divers points végétatifs des jeunes plantes; il en résulte une plus grande production de déchets, d'alcaloïde qui vient s'ajouter à celui déjà existant; et comme, en même temps, dans la plante verte normale, le suc cellulaire se concentre, les réactions microchimiques s'obtiendront à nouveau, au bout d'un certain temps.

C'est ainsi que s'expliquent, à mon avis, les résultats d'Albo. Dans diverses recherches microchimiques, soit sur des germinations, soit sur des plantes mises dans des conditions spéciales pour voir ce que devenaient les alcaloïdes, j'ai maintes fois observé la diminution apparente de ceux-ci. A mesure que le suc cellulaire devenait plus abondant ou plus aqueux, on voyait les réactions d'alcaloïde s'affaiblir considérablement ; mais comme mes expériences portaient surtout sur la morphine, l'atropine, l'aconitine, etc., et comme je caractérisais ces alcaloïdes par les réactifs précipitants (iodure de potassium iodé, iodure de mercure et de potassium, acide phosphomolybdique, etc.), infinement plus sensibles, quand il s'agit de dilution, que ne le sont les réactifs colorants, je pouvais encore constater dans des plantules ou des plantes étiolées, de faibles précipités, ou même seulement des troubles, indices de la persistance de l'alcaloïde. Ces résultats n'ont jamais été publiés, parce que j'estimais qu'il devaient être vérifiés par l'analyse chimique. Je n'ai pas encore eu l'occasion de faire, macrochimiquement, toutes ces vérifications; mais ce que je viens d'avancer trouve une confirmation dans mes dosages de caféine aux divers stades de germination des graines de *Coffea* et dans la façon dont se conduisent les alcaloïdes au cours du développement de la plantule de *Datura Stramonium*.

---

(1) PH. MOLLE, *Recherches de microchimie comparée sur la localisation des alcaloïdes dans les Solanacées.* (MÉMOIRES IN-8° DE L'ACADÉMIE ROYALE DES SCIENCES, ETC., DE BELGIQUE, 1896, t. LIII, ou RECUEIL DE L'INSTITUT BOTANIQUE DE BRUXELLES, t. II.) Ce travail contient la bibliographie des recherches microchimiques sur les diverses Solanacées.

Comme preuve du rôle de réserve nutritive joué par la solanine, Albo cite des recherches de Meyer (1), qui a déterminé la quantité de cette substance contenue dans les jets de la Pomme de terre à différents moments. Lorsqu'ils sont encore très courts, ayant moins de 1 centimètre de longueur, l'alcaloïde s'y trouve dans la proportion de 5.03 °/₀₀. Plus tard, lorsque ces jets ont atteint, dans l'obscurité, un développement considérable et mesurent 1$^{m}$,50 de longueur, la quantité de solanine tombe à 0.80 °/₀₀, c'est-à-dire est réduite au sixième environ. L'auteur voit dans ce résultat la preuve d'une utilisation de la solanine et il ne prend pas en considération le point essentiel à envisager ici, qui est de comparer la quantité totale d'alcaloïde contenue dans un jet de Pomme de terre mesurant moins de 1 centimètre avec celle que renferme un jet cent cinquante fois plus long. Malheureusement, Meyer n'indique pas le poids moyen des jets de différentes longueurs et on ne peut tirer aucune conclusion physiologique de son travail, comme Albo et lui semblent vouloir le faire.

---

(1) G. Meyer, *Ueber den Gehalt der Kartoffeln an Solanin und über die Bildung während der Keimung.* (Archiv. für exp. Pathologie und Pharmakologie, 1895, Bd XXXVI, p. 369.)

Pour attribuer aux alcaloïdes le rôle d'aliments de réserve, il faudrait qu'il fût possible de constater leur utilisation lorsque la plante est mise dans l'impossibilité d'assimiler ou d'élaborer de nouveaux matériaux azotés ; comme on observe la disparition de l'amidon en mettant la plante à l'obscurité ou dans une atmosphère privée d'anhydride carbonique. Mais le résultat est tout à fait différent. Aussi longtemps que la plante ne dépérit pas, l'alcaloïde y reste, tandis que tout l'amidon disparaît. J'ai fait des expériences très variées avec de nombreuses plantes de *Papaver somniferum*, cultivées en pots, et avec des rameaux d'*Atropa Belladonna*. Souvent, les réactions microchimiques étaient moins intenses, parce que le suc cellulaire devenait plus aqueux; mais si l'on fait le dosage des alcaloïdes, on s'assure qu'il n'y a pas eu réellement diminution, comme on le voit nettement dans les recherches sur le Caféier et le Thé.

De même la privation d'aliments azotés ne provoque pas plus l'utilisation de l'alcaloïde dans des rameaux d'*Atropa Belladonna* ou dans des plantes de *Papaver somniferum*, que dans les rameaux de *Thea* placés dans des solutions minérales non azotées. J'ai fait ces recherches il y a déjà longtemps, et j'ai pu constater que, dans ce cas, l'atropine et la morphine ne disparaissaient pas. Ces recherches « microchimiques » sur le Pavot et la Belladone n'étaient que qualitatives; mais les analyses quantitatives des rameaux de Thé sont venues confirmer les résultats de l'étude microscopique.

Il y a d'ailleurs un parallélisme complet entre la façon dont la caféine et les autres alcaloïdes se conduisent dans les plantes. J'ai pu le constater dans les diverses expériences auxquelles j'ai soumis les plantes à caféine. Sur celles-ci, j'ai fait de nombreuses incisions annulaires qui toujours produisaient une diminution de la caféine. N'ayant jamais, antérieurement, fait d'annélations aux autres plantes à alcaloïdes, j'ai recherché, pendant mon séjour à Buitenzorg, quel était le résultat de ces incisions annulaires pratiquées sur des plantes très vigoureuses d'*Erythroxylon Coca*. Comme chez le *Coffea* et le *Thea*, il s'est produit dans la portion annelée des jeunes rameaux une très forte diminution de la cocaïne qui, dans un cas, allait de 6.59 °/₀ à 4.09 °/₀ de cocaïne, pesée sous forme de phosphomolybdate. Les rameaux annelés ont présenté le même phénomène de dépérissement qui a été signalé à propos du Thé (p. 62) et qui s'est produit plus rapidement ici, par suite de la croissance beaucoup plus active des plantes de Coca.

De tous ces faits, il semble bien résulter que les alcaloïdes pyridiques, de même que la caféine, sont toujours des déchets résultant du métabolisme cellulaire. Cette interprétation trouve encore une confirmation dans les résultats négatifs obtenus dans les essais de nutrition des plantes au moyen de solutions d'alcaloïdes. Déjà en 1825, Marcet (1), puis Schübler (2), en 1827, avaient observé une action nuisible des solutions d'alcaloïdes sur les plantes. Leur non-utilisation fut constatée de nouveau par Knop et Wolf (3), tandis que Réveil (1), la même année, dans un travail très bien fait, avance que l'atropine est un véritable engrais pour certaines plantes. Malgré tous les soins dont semblaient entourées les expériences de Réveil, ses résultats concernant l'atropine n'ont pu être vérifiés ultérieurement. Ni Marcacci (2), ni de Varigny (3) ne purent constater qu'elle favorise le développement de jeunes plantes, et il en est bien de même avec les autres alcaloïdes, ainsi que le confirment encore les travaux de De Toni et Mach (4) et ceux d'Otto (5).

---

(1) MARCET, *De l'action des poisons sur le règne végétal.* (ANN. DE CHIM. ET PHYS., 1825, t. XXIX, p. 200.)

(2) SCHÜBLER, *Untersuchungen über die Einwirkung verschiedener Stoffe des organischen und unorganischen Reiches auf das Leben der Pflanzen.* Flora, 1827, Bd II, p. 753.

(3) KNOP u. WOLF, *Notiz über die stickstoffhaltigen Nahrungsmittel der Pflanzen.* (DIE LANDWIRTSCH. VERSUCHSST., 1865, Bd VII, p. 308.)

Dans ces derniers temps, un important travail de Lutz (6) est venu apporter de nouvelles preuves de la non-utilisation des alcaloïdes par les jeunes plantes. En faisant chaque fois le dosage de l'azote total, par la méthode de Dumas, dans de nombreuses expériences, Lutz trouve que la glycolamine, la bétaïne, la leucine, la tyrosine, la pyridine, la caféine, la quinine, la cocaïne, l'atropine, la morphine, la pipéridine ne peuvent servir d'aliment aux Phanérogames. Chez les Champignons, les résultats sont à peu près analogues ; mais si l'*Aspergillus niger* et le *Penicillium glaucum* ne peuvent pas utiliser l'alcaloïde quand il leur est fourni comme seul aliment azoté, au contraire, ils se développent très bien aux dépens de celui-ci, lorsqu'on l'associe à un véritable aliment azoté, de l'azotate d'ammonium, par exemple. Il semble donc que, pour parvenir à détruire et à utiliser la molécule alcaloïdique, le Champignon ait besoin d'avoir acquis un certain développement, une certaine vigueur, et ce fait est à rapprocher de ce que l'on observe dans les plantes à alcaloïde, chez lesquelles celui-ci disparaît dans les feuilles adultes.

---

(1) Réveil, *Recherches de physiologie végétale. Action des poisons sur les plantes.* Lyon, 1865.

(2) Marcacci, *L'azione degli alcaloidi nel regno vegetale ed animale.* (Annali di chimica farmacologica, 1887, Milano.)

(3) De Varigny, *L'atropine est-elle un engrais végétal?* (Revue générale de Botanique, 1892, t. IV, p. 407.)

(4) De Toni et Mach, *Sopra l'influenza esercitata dalla nicotina e dalla solanina sulla germogliazione dei semi di tabacco.* (Boll. d. r. Istituto botan. d. Università parmense, Parma, 1893, p. 63.)

(5) R. Otto, *Welchen Einfluss haben Strychninlösungen auf die Entwickelung von Pflanzen.* (Naturw. Wochensch., 1894, Bd IX, p. 625.)

(6) Lutz, *Recherches sur la nutrition des végétaux.* (Ann. d. sc. nat., Botanique, 1898, [8], t. VII, p. 1.)

Dans son travail, Lutz signale un autre point intéressant. Il constate que dans les plantes qui ont végété sur un milieu azoté peu ou pas assimilable, ou dépourvu d'aliment azoté, il y a toujours, à la fin de la végétation, une perte de l'azote initial et qui, vraisemblablement, doit se produire sous forme d'azote libre.

Ce résultat contredit l'opinion généralement admise, qu'il n'y a jamais perte d'azote chez la plante, même à la fin de la végétation, et il confirme la conclusion à laquelle j'étais arrivé dans des dosages comparatifs de l'azote, sous ses différentes formes, contenu dans les capsules du Pavot, avant et après la maturité (1). Ces dosages avaient pour but de voir si les alcaloïdes qui disparaissent pour la plus grande partie pendant la maturation de la capsule ne se transformaient pas en matières albuminoïdes. Ils m'ont donné un résultat négatif à ce sujet, et ils ont montré qu'il y avait toujours dans les capsules mûres et sèches un déficit dans le bilan de l'azote.

Ainsi donc, de quelque façon que l'on veuille démontrer le rôle alimentaire des alcaloïdes, on n'aboutit qu'à des insuccès. On a voulu invoquer la similitude de certains groupements moléculaires existant dans quelques bases organiques et dans les matières albuminoïdes, qui impliquerait une certaine parenté entre ces substances; mais cette parenté n'en subsiste pas moins si l'on fait dériver les alcaloïdes des composés protéiques, au lieu d'admettre la supposition inverse. Il serait étrange, d'ailleurs, de rencontrer dans les diverses étapes de la synthèse des matières azotées dans la plante, entre les molécules des nitrates ou des sels ammoniacaux et celles des albumines riches en azote, des stades intermédiaires aussi pauvres en cet élément et à structure moléculaire aussi complexe que les alcaloïdes de la série pyridique. Cet argument ne s'applique toutefois pas à tous les groupes d'alcaloïdes; mais si la caféine appartient aux composés organiques les plus azotés, son rôle de substance non plastique ou aplastique au sens de Pfeffer (1), n'en est pas moins indubitable.

---

(1) G. Clautriau, *L'azote dans les capsules de Pavot.* (Bull. de la Société belge de microscopie, 1894, t. XVIII, p. 80, ou Recueil de l'Institut botanique de Bruxelles, t. II.)

En traitant de la signification de la caféine au début de ce chapitre, nous avons dit (p. 69) que son origine, sa nature de déchet n'empêchent pas qu'elle puisse être détruite ultérieurement, et qu'à la suite de ce morcellement de la molécule l'azote qui y est contenu soit probablement capable de rentrer de nouveau dans le métabolisme général ou plus exactement dans l'anabolisme. Il en est sans doute de même pour les autres alcaloïdes que nous voyons, chez beaucoup de plantes, apparaître progressivement, s'accumuler, puis disparaître peu à peu à la fin de la végétation. Ce phénomène est surtout nettement marqué dans les plantes herbacées annuelles, comme, par exemple, le Pavot (2). Cette espèce, que j'ai beaucoup étudiée, convient très mal pour certaines recherches physiologiques. Ses feuilles ont une existence de courte durée : pendant que de nouvelles se forment, les plus vieilles dépérissent et il devient difficile de déterminer exactement si, en mourant, elles détruisent peu à peu leurs alcaloïdes ou bien si ceux-ci cheminent vers les parties supérieures plus jeunes, pour s'accumuler dans les tissus de la capsule verte où ils existent en abondance, lorsqu'elle arrive à son volume définitif. Mais ils en disparaissent plus tard, au cours de la maturation des graines, sans toutefois, ainsi que l'indiquent mes dosages, intervenir directement dans cette maturation.

---

(1) PFEFFER, *Pflanzenphysiologie,* II. Auflage, 1897, p. 439.

(2) G. CLAUTRIAU, *Recherches microchimiques sur la localisation des alcaloïdes dans le* Papaver somniferum. (ANN. SOCIÉTÉ BELGE DE MICROSCOPIE, 1889, t. XII, p. 67, ou RECUEIL DE L'INSTITUT BOTANIQUE DE BRUXELLES, t. II.)

Dans les plantes bisannuelles ou vivaces, ou dont les feuilles persistent longtemps, on constate moins cette disparition complète à la fin de la période de végétation et, le plus souvent, un phénomène secondaire se produit : l'accumulation des alcaloïdes dans certains organes persistants, tels que les parties souterraines charnues, les écorces, etc. Mais toutefois beaucoup d'espèces ligneuses présentent nettement encore, comme les plantes annuelles, un moment de plus grande toxicité, c'est-à-dire un moment de proportion maximum d'alcaloïde.

A première vue, d'après ceci, il semble qu'il existerait dans la plante deux stades bien distincts quant à la marche des alcaloïdes : un stade de production et un stade de destruction.

En réalité, il n'en est rien. Durant la vie du végétal, ces deux stades peuvent se manifester côte à côte, mais avec des intensités très différentes. La production d'alcaloïde est surtout considérable lorsque des tissus nouveaux se forment, lorsqu'une active division cellulaire a lieu, comme dans tous les points végétatifs, par exemple. Ce sont ces endroits de grande croissance qui sont par excellence le siège de la formation de l'alcaloïde; et l'on conçoit que, à mesure que la plante grandit, augmente le nombre de ses rameaux dont chaque extrémité devient un lieu de production de bases organiques, la quantité totale de celles-ci tende à augmenter considérablement. Si l'on envisage le poids de la caféine contenue dans une graine de Caféier et si on le détermine ensuite dans la plante à différents moments, on constatera un accroissement de plus en plus rapide jusqu'à une certaine dimension du Caféier, jusqu'à ce que la quantité d'organes adultes, dans lesquels la destruction de la caféine semble se produire, soit suffisante pour contre-balancer la production des jeunes rameaux.

Il en résulte que le poids d'alcaloïde que renferme une plante, à un stade de végétation quelconque, représente seulement la différence entre la quantité d'alcaloïde qui a été formée et celle qui a été détruite à ce moment. Aussi longtemps que le développement reste intense, l'alcaloïde ne diminue pas; mais, après la floraison et la fructification, lorsque la croissance se ralentit ou s'arrête, la plante ne cesse pas pour cela de vivre et peut continuer son travail de destruction pendant un temps plus ou moins long. Ainsi s'explique, selon nous, l'évolution de l'alcaloïde dans la plante, indépendamment d'un phénomène secondaire, l'emmagasinement ou localisation dans certains tissus, qui intervient souvent et dont nous reparlerons tantôt.

Que devient l'alcaloïde lorsqu'il disparaît? Il serait très intéressant de pouvoir élucider ce point non encore éclairci et qui présente de grandes difficultés expérimentales, si, comme nous sommes porté à l'admettre, la destruction de la base donne naissance à des composés susceptibles d'être assimilés à nouveau et qui, pour cette raison, disparaissent à mesure de leur production.

Peut-être la destruction est-elle plus complète encore. Mais il faudrait pour cela démontrer son rôle dans cette perte d'azote à la fin de la végétation, signalée par Lutz, dont nous avons déjà parlé (p. 79), et qui semble, d'après les quelques recherches qui ont été faites, devoir être attribuée à un dégagement d'azote libre (1). Toutefois, cette perte d'azote

---

(1) Ce dégagement d'azote libre à la fin de la végétation (qui n'est guère admis encore actuellement quoique diverses analyses montrent qu'un déficit en azote se constate souvent dans la plante qui meurt) permet d'expliquer pourquoi on ne constate pas un accroissement constant du stock d'azote combiné à la surface du globe, malgré l'importante fixation d'azote atmosphérique par les Légumineuses et quelques micro-organismes et la formation continue de composés oxygénés de l'azote, sous l'influence des phénomènes électriques de l'atmosphère.

Un dégagement d'azote libre est provoqué aussi par des Bactéries, et n'est pas liée à la présence d'alcaloïdes, et elle a lieu tout aussi bien en leur absence.

L'existence simultanée dans les plantes des processus de formation et de destruction des alcaloïdes, permet de nous rendre compte des grandes différences qui existent entre des espèces très voisines quant à leur richesse en ces composés. Suivant l'intensité de l'un ou l'autre processus, on pourra rencontrer côte à côte des espèces riches en principes actifs et d'autres qui n'en renferment que des traces ou qui en paraissent totalement privées. Il en résultera, d'un autre côté, que des plantes, dans lesquelles l'analyse n'indique pas la présence d'alcaloïdes, peuvent en fabriquer cependant. Et ce point acquiert une importance très grande, si on le rapproche de la vaste distribution des alcaloïdes dans le règne végétal. Peu de familles en sont exemptes, avons-nous vu au second chapitre de ce travail, et il s'ensuit que la production d'alcaloïde doit être un phénomène bien plus général qu'on n'est porté à l'admettre. Sinon, comment expliquer cette vaste répartition ? Comment expliquer leur présence, pour les composés puriques et aliphatiques, dans toute la série végétale, et, pour les composés pyridiques, dans la plupart des familles des Phanérogames ? Si la production d'alcaloïde était un fait particulier, spécial, ne la verrions-nous pas être localisée davantage dans certains groupes, caractérisant des Gymnospermes ou des Angiospermes, Monocotylédones ou Dicotylédones, comme nous voyons les résines être surtout le propre des Conifères, ou bien les caoutchoucs et la gutta-percha n'appartenir qu'aux Dicotylédones ?

Toute plante, comme tout animal, dans ses échanges nutritifs, produit des déchets : déchets carbonés, dont le plus

---

Grimbert a mis nettement en évidence les conditions très spéciales dans lesquelles ce phénomène se produit. (ANN. PASTEUR, 1899, t. XIII, p. 67, *Action du Bacille coli et du Bacille d'Eberth sur les nitrates.*)

général est l'anhydride carbonique; déchets azotés, au premier rang desquels nous plaçons les alcaloïdes, qui ne représentent pas un groupe chimique défini, mais comprennent tous les composés organiques azotés résultant du métabolisme destructif ou catabolisme. Leur grande variété est un nouvel indice de leur origine. En effet, dans le métabolisme constructif, ou anabolisme, les produits que l'on peut considérer comme intermédiaires entre l'anhydride carbonique et l'amidon, dans l'assimilation du carbone, sont en nombre restreint, si on les compare à ceux qui peuvent prendre ou qui prennent naissance ultérieurement au cours de l'utilisation et de la transformation des hydrates de carbone proprement dits.

De même, en ce qui concerne l'assimilation de l'azote, entre les nitrates ou les sels ammoniacaux et les substances albuminoïdes, nous voyons presque partout apparaître l'asparagine (qui souvent même n'est décelable que si l'on empêche sa transformation ultérieure); chez les animaux, également, l'aliment albuminoïde, avant d'être assimilé, est ramené chez tous à un produit analogue par la protéolyse, tandis que les substances azotées de régression sont très variées et sont à rapprocher de la variété, plus grande encore, des alcaloïdes végétaux.

La plante, qui ne peut excréter au dehors ses déchets azotés, composés pour la plupart solides, doit donc chercher à les détruire, et elle y arrive ainsi que nous venons de le dire plus haut. Mais si la destruction n'est pas suffisamment rapide ou, peut-être, n'a pas lieu, un phénomène secondaire devra se produire forcément pour maintenir le parfait fonctionnement des cellules, qu'une accumulation trop grande troublerait; et ce phénomène est l'emmagasinement des alcaloïdes, leur localisation, temporaire ou définitive, dans certains organes, dans certains tissus, où ils n'occasionneront aucune gêne, tels ceux qui, par leur nature, avaient déjà à remplir un rôle de protection, comme l'épiderme et l'écorce, ou un rôle d'organe de réserve, comme les parties souterraines charnues et les graines.

Cette accumulation des alcaloïdes, substances à saveur généralement désagréable, très amères, souvent toxiques, constituait pour l'espèce un avantage considérable dans la lutte pour l'existence, et l'on comprend que, par sélection, cette faculté se soit fixée et exagérée peu à peu chez certaines plantes. La localisation épidermique et l'accumulation dans les parties jeunes protègent les feuilles et l'extrémité des rameaux contre la voracité des herbivores ou des limaces (1). La présence des alcaloïdes dans les organes de réserve qui constituent un amas de matériaux nutritifs très recherchés par certains animaux, leur procure également une protection efficace, et ces organes ne sont généralement qu'entamés par ces animaux. On comprend de même l'avantage d'un latex vénéneux qui, à la moindre blessure, vient sourdre en abondance. Dans les écorces jeunes, les alcaloïdes sont aussi un bon moyen de protection; ils s'y accumulent parfois en quantités énormes. Chez les Quinquinas, par exemple, ils y restent sans plus jamais être repris par la plante, ce qui est encore un nouvel argument en faveur de leur signification de déchets. Dans les graines, ainsi qu'un travail antérieur l'a établi (2), les différentes localisations que l'on observe tendent toutes au même but : la protection de l'embryon et de la jeune plantule.

## Conclusions.

I. — Suivant la nature du radical azoté qu'ils renferment, les alcaloïdes se subdivisent en groupes chimiques distincts : alcaloïdes pyridiques, puriques, aliphatiques, etc.

II. — Contrairement à l'opinion de Heckel, l'alcaloïde ne disparaît pas au cours de la germination de la graine et n'est pas utilisé directement par la jeune plantule.

---

(1) E. Stahl, *Pflanzen und Schnecken.* (Jenaische Zeitschrift für Naturwissenschaft und Medizin, 1888, Bd XXII.)

(2) G. Clautriau, *Localisation microchimique des alcaloïdes dans quelques graines.* (Loc. cit.)

III. — L'alcaloïde donné à la plante comme seul aliment azoté n'est pas utilisé.

IV. — L'alcaloïde n'est pas un produit direct de l'assimilation. Il se forme toujours dans les endroits de grande activité cellulaire, où il résulte des transformations subies par les matériaux cytoplasmiques.

V. — Expérimentalement, la disparition des alcaloïdes dans les plantes n'est jamais accompagnée d'une augmentation concomitante des substances albuminoïdes ; tandis qu'en provoquant une diminution des matières protéiques, la proportion d'alcaloïde augmente notablement.

VI. — Les alcaloïdes sont donc des déchets de l'activité cellulaire.

VII. — Étant donnée l'existence, déjà signalée, d'alcaloïdes dans un très grand nombre de familles végétales, leur production doit être considérée comme un phénomène très général chez les plantes.

VIII. — La plante est capable de détruire son alcaloïde. Dans certains cas, la destruction peut probablement se manifester très tôt et avec assez d'intensité pour que la plante paraisse ne pas former d'alcaloïde.

IX. — L'accumulation, la localisation des alcaloïdes est un fait particulier, spécial à certaines espèces et dû à la sélection naturelle.

X. — Toutes les localisations des alcaloïdes démontrent qu'ils servent à la protection de la plante.

# LA DIGESTION

DANS LES

# URNES DE *NEPENTHES*

PAR

**G. CLAUTRIAU,**

Assistant à l'Institut botanique (1).

## PREMIÈRE PARTIE.

### I.

### CONSIDÉRATIONS GÉNÉRALES SUR LA DIGESTION.

Dans son sens le plus étendu, on peut définir la digestion comme étant l'ensemble des modifications, physiques ou chimiques, que l'organisme fait subir aux aliments pour les rendre assimilables.

Ces modifications peuvent être plus ou moins profondes et dépendent à la fois de l'être vivant et de la constitution chimique de la substance alimentaire. La nourriture propre aux divers organismes varie beaucoup et peut aller depuis l'azote atmosphérique ou les composés minéraux très simples, comme l'anhydride carbonique et les nitrates, sulfates, phosphates alcalins, de calcium, de magnésium et de fer, qui suffisent à la nutrition de la plupart des végétaux, jusqu'aux substances complexes de la chimie organique telles que les graisses, les hydrates de carbone, les matières protéiques, indispensables au développement des animaux supérieurs.

---

(1) Ce travail, adressé à la Classe des sciences de l'Académie royale de Belgique en réponse à une question de concours, a été couronné par elle dans sa séance du 15 décembre 1898. Il paraît simultanément ici et dans les *Mémoires couronnés et autres mémoires* in-8° de l'Académie, t. LIX, 1900. L. E.

Ces aliments organiques, dont ceux-ci ont besoin, doivent généralement subir, avant d'être assimilés, des dédoublements plus ou moins profonds. Leurs molécules, souvent très grosses se scindent en un nombre variable d'autres molécules plus petites qui peuvent alors pénétrer dans les tissus et servir au métabolisme de l'individu. Pour produire ces changements moléculaires, l'organisme sécrète des substances chimiques particulières. Mais en outre, à mesure que, dans la série animale, l'alimentation se spécialise ou se complique, un appareil, destiné à cette élaboration des aliments, s'organise et se différencie de plus en plus, pour atteindre un très haut degré de perfectionnement dans le tube ou canal digestif des Mammifères supérieurs.

Quelques auteurs semblent vouloir subordonner la digestion à l'existence d'un appareil différencié et, pour eux, elle serait l'apanage exclusif du règne animal. Mais si l'on considère la structure des animaux inférieurs, on voit la cavité digestive devenir de plus en plus rudimentaire ; et, au bas de l'échelle animale, elle n'existe même plus. Ailleurs, chez les Amibes, la masse protoplasmique sans membrane limitante qui constitue le corps tout entier, englobe la proie, l'enferme en une sorte de vacuole où elle est baignée dans un suc digestif qui la dissout peu à peu. Ici, il n'y a encore aucune trace d'organe spécial ; et cependant un phénomène de digestion se manifeste déjà, avec sécrétion d'acide, ainsi que l'a montré Le Dantec [1], avec sécrétion de zymase, d'après les travaux de Krukenberg.

Dès que l'organisme inférieur s'entoure d'une membrane continue, il n'est plus capable que d'absorber des substances dissoutes. Souvent, celles-ci ne sont pas directement assimilables; et de même que chez les Myxomycètes il y a une digestion de la proie solide, de même, chez les Levures de bière, par exemple, il y aura une digestion préalable, par l'invertase, de la saccharose ou de la maltose qui pénètre par diffusion. Ce phénomène peut aussi se produire en dehors de l'organisme, par sécrétion de la substance dédoublante. L'*Aspergillus niger* sécrète son amylase; nombre de Bactéries dissolvent l'albumine coagulée ou dédoublent la cellulose.

---

[1] Le Dantec, *Recherches sur la digestion intracellulaire chez les Protozoaires*. (Ann. Pasteur, 1890, p. 776, et 1891, p. 163.)

Nous pouvons ainsi retrouver, chez les organismes inférieurs, tous les stades dans l'ébauche de la digestion; et, par suite, la caractéristique de celle-ci n'est pas dans l'existence d'un appareil plus ou moins différencié, mais dans la sécrétion de substances digestives, composés chimiques définis, capables de rendre les aliments assimilables.

Ces substances digestives sont très diverses. Le plus souvent elles appartiennent à la classe des ferments solubles ou zymases, mais elles peuvent aussi être de constitution chimique plus simple : acides, bases, etc.

La plupart des plantes vertes empruntent à l'atmosphère, sous forme d'anhydride carbonique directement assimilable, tout le carbone qui entre dans la constitution de leurs tissus. Aucun phénomène digestif ne se manifeste dans ce cas, pas plus que dans l'absorption par les racines des sels minéraux qui se trouvent en dissolution dans l'eau du sol. Mais ces racines peuvent aussi prendre à des composés insolubles dans l'eau le potassium, le calcium, le phosphore, etc., nécessaires à la plante; et cette digestion des calcaires, des feldspaths, des phosphates, se fait sous l'influence d'une sécrétion acide qu'il est aisé de mettre en évidence. Il suffit, en effet, de faire croître les racines de beaucoup de plantes sur des plaques de marbre polies, pour observer une corrosion très nette de la surface, partout où la racine a été en contact avec la plaque. De même aussi, certaines plantules que l'on fait pousser sur du papier de tournesol bleu font virer au rouge ce papier sur tout le parcours des racines.

Il y a dans ce cas une vraie ébauche de la digestion, sous sa forme la plus simple : la solubilisation. C'est la seule qui se manifeste, en somme, chez le plus grand nombre des plantes vertes, chez les nombreuses plantes holophytes ou autotrophes[1], dont toute l'assimilation se fait aux dépens de matériaux inorganiques. Mais, à côté de ces plantes, il en existe un certain nombre d'autres pour lesquelles une alimentation aussi simple ne suffit plus et qui ont besoin, pour vivre, d'absorber, en partie ou en totalité, leur carbone et peut-être leur azote, leur soufre, etc., sous forme de composés organiques. Ce sont les plantes saprophytes et parasites, à nutrition hétérotrophe ou allotrophe. Entre ces diverses catégories, on peut trouver tous les stades transitoires, depuis la nutrition purement holophyte jusqu'à la nutrition exclusivement saprophyte. Malheureusement, au sujet de cette dernière forme, nos connaissances sont encore peu étendues et nous ne savons guère comment les matières nutritives sont absorbées par les racines de ces plantes. Faut-il attribuer le principal rôle digestif aux nombreux filaments mycéliens, les mycorhizes, vivant en symbiose avec les racines des saprophytes? N'y a-t-il pas lieu de supposer cependant, surtout lorsque les mycorhizes manquent, que ces racines doivent pouvoir agir directement sur le milieu organique ambiant, y amener des dédoublements préalables, et cela le plus souvent par la sécrétion de zymases, comme le font beaucoup de Bactéries et de moisissures?

---

[1] Pfeffer, *Pflanzenphysiologie*. Leipzig, 1897, 2. Auflage.

D'ailleurs, même chez toutes les Phanérogames pourvues de chlorophylle, lors de la germination de la graine, une véritable digestion des matériaux de réserve se produit, et pendant tout un temps le jeune embryon vit d'une façon purement saprophyte, hétérotrophe.

Dès que les premières feuilles apparaissent, dès que la chlorophylle qu'elles renferment reçoit les radiations lumineuses, la plante verte devient autotrophe, le plus souvent. Mais, chez quelques-unes, on pourra voir apparaître un nouveau saprophytisme, très spécialisé, destiné à procurer un surcroît d'aliments. Comme la plante est capable d'assimiler abondamment l'anhydride carbonique de l'air qui ne lui fait jamais défaut, ce ne sera donc pas du carbone qu'elle cherchera à prendre sous une autre forme, mais bien un autre aliment moins copieusement fourni : l'aliment azoté. Souvent les combinaisons azotées directement assimilables n'existent qu'en minimes proportions dans le sol et l'on comprend aisément l'avantage que tirera la plante de toute disposition pouvant augmenter son alimentation azotée.

C'est cette disposition, c'est ce recours à un saprophytisme partiel, qui se présente d'une façon si remarquable chez les plantes carnivores ou insectivores, chez lesquelles les feuilles se différencient et se transforment, partiellement ou en totalité, en appareils destinés à attirer, à capturer et à digérer de petits animaux. Il y a là une sorte de nutrition animale, c'est-à-dire une nutrition essentiellement azotée. En même temps, les cadavres des animaux capturés peuvent aussi céder d'autres substances à la plante, et il n'est pas impossible que celle-ci bénéficie également, dans une certaine mesure, du phosphore, du soufre, des alcalis provenant des tissus de ces animaux.

La digestion des plantes carnivores a déjà fait l'objet de nombreuses recherches qui, pour la plupart, ont établi que leur dénomination est pleinement justifiée.

Le présent travail confirme cette idée. Je me suis appliqué à suivre, d'aussi près que possible, la marche du phénomène chez l'un des genres les plus caractéristiques, chez les *Nepenthes*, dont j'ai eu l'occasion d'observer à loisir, dans son habitat naturel, une espèce très répandue à Java, et dont j'ai pu étudier ensuite diverses espèces, cultivées dans les serres du Jardin botanique de Bruxelles. Mais avant d'exposer le détail de mes recherches et de donner les conclusions qui en découlent, je désire rappeler brièvement les principales particularités des plantes carnivores.

## II.

### GÉNÉRALITÉS SUR LES PLANTES CARNIVORES.

Les plantes carnivores sont toutes des Phanérogames dicotylédones et appartiennent à cinq familles végétales : les Droséracées, les Sarracéniacées, les Népenthacées, les Céphalotacées et les Lentibulariacées.

Chacune de ces familles ne comprend qu'un petit nombre de genres; mais elles présentent cette particularité remarquable, qu'un même caractère biologique, la faculté insectivore, se retrouve à un degré plus ou moins marqué dans toutes leurs espèces, au nombre d'environ trois cent cinquante.

Une autre particularité de ces plantes est leur vaste dispersion. On en trouve pour ainsi dire sur toute la surface du globe, à part les régions polaires, les déserts africains et les pampas de l'Argentine.

Ce sont les Droséracées qui ont l'aire de dispersion la plus considérable. Le genre *Drosera* se rencontre aussi bien dans l'ancien que dans le nouveau continent, tandis que les autres genres ont un habitat plus spécialisé. Le *Dionaea* est spécial à l'Amérique du Nord, le *Roridula* est propre à l'Afrique australe, le *Byblis* existe en Australie avec le genre *Aldrovanda*, qui croît aussi en Europe. Le *Drosophyllum* est originaire du Portugal et du Maroc.

De même que les Droséracées, les Lentibulariacées possèdent un genre, *Utricularia*, répandu presque partout. Les *Pinguicula* habitent tout l'hémisphère nord et même, en Amérique, le long de la chaîne des Andes, ils s'étendent jusqu'aux régions antarctiques. Les *Genlisea* sont des carnivores des régions tropicales américaines et africaines, tandis que le *Polypompholix* est australien.

Les autres familles ont une aire de dispersion plus limitée. Les Sarracéniacées sont américaines, les Céphalotacées sont originaires d'une petite région de l'Australie, et enfin les Népenthacées sont propres aux îles de l'océan Indien, depuis la Nouvelle-Guinée jusqu'à Madagascar.

Les plantes carnivores habitent en général les endroits humides ou marécageux. Toutefois, le *Drosophyllum* provient de régions arides et sèches. Elles sont généralement de dimensions assez restreintes, à part les *Nepenthes,* dont certaines espèces vivent en épiphytes et ont des tiges pouvant atteindre une longueur considérable.

Le dispositif mis en œuvre par ces plantes pour attirer, capturer et digérer les petits animaux, est très variable; mais dans tous les cas, il représente une feuille transformée. Tantôt, comme chez le *Dionaea*, la feuille constitue un véritable piège qui se referme et emprisonne l'insecte; d'autres fois, elle se recouvre de glandes plus ou moins longuement pédicellées, sécrétant un mucilage brillant au soleil dans lequel l'insecte vient s'engluer (*Drosera, Drosophyllum*). Les *Utricularia* sont pourvus de petites poches dans lesquelles les petits crustacés surtout sont attirés, emprisonnés et finalement digérés. Enfin, les *Nepenthes, Sarracenia, Cephalotus*, présentent une modification très curieuse de la feuille ou d'une partie de celle-ci, qui se change en une sorte de réservoir où s'accumule un liquide sécrété par la plante et dans lequel les insectes viennent tomber, se noient et sont ensuite digérés.

Quant au mode de digestion, il est nettement établi maintenant que, chez la plupart de ces plantes, il y a sécrétion de substances capables de dissoudre les tissus des animaux qui ont été pris. Chez quelques-unes, cependant, elles semblent faire défaut, et Goebel[1] classe comme insectivores ne sécrétant pas de zymases, les *Sarracenia* et les *Cephalotus*.

Déjà au siècle dernier, les propriétés curieuses de quelques-unes de ces plantes avaient été signalées; et néanmoins, ce n'est que depuis peu de temps, surtout depuis la publication du livre de Darwin [1] sur ce sujet, que cette fonction carnivore de certains végétaux fut définitivement acceptée dans la science. Il avait donc fallu plus de cent ans pour que le phénomène observé et signalé par J. Ellis en 1765 ne soulevât plus de protestations!

---

[1] Goebel, *Pflanzenbiologische Schilderungen, Insectivoren,* 2. Theil, S. 52.

Il n'est pas nécessaire de mentionner ici toute la bibliographie concernant les plantes carnivores. Elle se trouve très complètement renseignée dans les articles de Drude [2], de Goebel et dans l'ouvrage de Darwin ; et je m'en tiendrai uniquement à l'exposé des travaux publiés sur les *Nepenthes.*

## III.

## CARACTÈRES DES *Nepenthes*.

En général, les *Nepenthes* possèdent un rhizome rampant sur le sol ou s'étendant horizontalement dans la terre, qui donne naissance à des tiges feuillées, parfois aussi à des rosettes de feuilles. Celles-ci sont alternes et présentent une forme caractéristique bien connue. On peut y distinguer plusieurs parties : une portion basilaire subsessile ayant la forme et la structure d'une feuille entière, lancéolée, dont la nervure médiane se continue en un prolongement filiforme, arrondi, plus ou moins étendu, qui souvent est sensible au contact et joue le rôle de vrille. Ce prolongement est terminé par l'urne munie d'un couvercle que surmonte en arrière un petit éperon et garnie de deux ailes barbelées. D'après l'étude du développement, Goebel admet que l'urne avec son couvercle doit être considérée comme une modification du limbe de la feuille, dont l'extrémité est représentée par le petit éperon. La lame assimilatrice et la partie amincie, irritable, représenteraient le pétiole.

L'urne, qui est la partie la plus caractéristique de cette feuille, peut varier beaucoup de dimensions et de forme. Parfois ovoïde, parfois allongée, suivant les espèces, elle peut aussi être diversement colorée, les teintes allant du vert au rouge foncé. Sa structure est très particulière. Déjà, à un examen sommaire, on peut aisément constater qu'elle présente deux régions distinctes. L'une, supérieure, d'une teinte plus pâle, qui est la zone lisse avec un revêtement cireux à l'intérieur; l'autre, inférieure, d'une teinte plus foncée, où s'accumule le liquide sécrété. Cette portion inférieure est marquée d'une infinité de petits points plus foncés qui sont des glandes pluricellulaires. Elles ont la forme de coussinets ronds, insérés dans une légère dépression des cellules épidermiques qui, au pourtour, deviennent de plus en plus saillantes, principalement vers la partie supérieure de la glande, qu'elles finissent de cette façon par recouvrir d'une sorte d'auvent. Ces glandes sécrètent le liquide digestif et ce sont elles, ainsi que nous le verrons plus loin, qui absorbent ultérieurement les produits de la digestion.

---

[1] DARWIN, *Insectivorous plants,* 1875.

[2] DRUDE, O., *Die insektenfressenden Pflanzen*, in SCHENK, *Handbuch der Botanik*, Bd I, S 113.

La portion supérieure de l'urne, très lisse, est dépourvue de glandes. Au microscope, on y observe des cellules spéciales en forme de croissant, légèrement saillantes, dont la convexité est dirigée vers le haut.

Le rebord de l'urne affecte une disposition particulière. Il se replie en deux saillies qui se rabattent l'une vers l'intérieur, l'autre vers l'extérieur. Elles sont marquées de stries transversales à surface glissante, qui vers l'intérieur se continuent par une pointe acérée. Entre chaque pointe se trouve une glande nectarifère. Il en existe également au pourtour du rebord extérieur, ainsi que vers le haut de la partie externe de l'urne et à la surface du couvercle.

Les insectes sont attirés par ces glandes nectarifères. Ils parviennent ainsi au rebord glissant de l'urne et, tentés surtout, d'après Macfarlane [1], par les glandes de la saillie intérieure, ils tâchent d'y atteindre, glissent inévitablement et tombent dans le liquide digestif.

Tous les *Nepenthes* sont originaires des îles de l'océan Indien et sont surtout répandus dans la grande île de Bornéo. En général, ils habitent les forêts humides de ces régions et croissent fréquemment alors en épiphytes vrais, avec le rhizome attaché au tronc des arbres pendant que les tiges s'accrochent aux branches par la portion irritable de leurs feuilles. On les trouve aussi poussant sur le sol; et selon les espèces, on peut les rencontrer depuis le niveau de la mer jusqu'à une altitude d'au moins 2,200 mètres pour le *Nepenthes melamphora*, et même 3,000 mètres pour le *Nepenthes Rajah*.

---

[1] Macfarlane, *Pitchered insectivorous plants*. (Pharmaceutical Journal, vol. XVI. Voir Bot. Jahresbericht, 1886, S. 121.)

L'action digestive du liquide des urnes a fait l'objet de recherches nombreuses. Toutes cependant ont été entreprises sur des spécimens cultivés dans nos serres; et ces plantes, dans leur habitat naturel, ont simplement été l'objet d'observations superficielles de la part des voyageurs, qui confirment les résultats obtenus en Europe. C'est ainsi que Mohnicke, cité par Goebel, signale que les urnes qu'il a observées étaient remplies d'insectes en pleine désagrégation, et que cependant le liquide n'avait aucune odeur de putréfaction.

De même Wallace, dans son voyage en Malaisie, pressé un jour par la soif, dut, pour se désaltérer, boire le liquide d'urnes contenant des insectes, et ce liquide n'avait aucune saveur désagréable.

Les urnes observées par ces deux explorateurs renfermaient beaucoup d'insectes. Au contraire, celles rencontrées par Haberlandt [1] et par Massart [2] étaient très pauvres en débris de ces animaux. Je reviendrai plus loin sur ce dernier point.

En Europe, des recherches méthodiques furent entreprises sur ces plantes. A la suite des observations de Darwin et d'autres auteurs sur le *Drosera* et sur le *Dionaea*, Hooker songea à examiner le liquide des *Nepenthes* [3] et fut le premier à constater que de petits cubes de blanc d'œuf, des fragments de viande, de fibrine, de cartilage, tels que ceux employés par Darwin, étaient attaqués et transformés en gelée après vingt-quatre heures. En deux ou trois jours, des fragments de fibrine pesant plusieurs grains avaient disparu.

Avec le cartilage, l'action est beaucoup plus accentuée. Mais si la digestion dans l'urne est très rapide, elle devient beaucoup plus lente, d'après lui, dans le même liquide en dehors de celle-ci. En six jours, des fragments de cartilage étaient à peine attaqués dans le liquide placé *in vitro*, alors que ces fragments retirés et remis ensuite dans une urne étaient promptement digérés. Toutefois le liquide de l'urne *in vitro* a une action différente de celle de l'eau distillée seule, et il estime qu'il est trois fois plus actif.

---

[1] HABERLANDT, *Eine botanische Tropenreise*. Leipzig, 1893, S. 227.

[2] MASSART, *Un botaniste en Malaisie*. (BULL. DE LA SOC. ROY. DE BOTANIQUE DE BELGIQUE, 1895, t. XXXIV, 1re part., p. 253.)

[3] HOOKER, *Carnivorous plants*. British Association. Belfast, 1874. (NATURE, t. X, p. 366.)

Hooker reconnut que l'absorption se produit intégralement lorsqu'on ne met que peu de substances protéiques, mais qu'une partie se putréfie quand on force la dose. Il admet que le liquide est antiseptique, quoiqu'il ajoute, plus loin, que du cartilage placé dans du liquide d'urne *in vitro* devient putride, mais moins rapidement que dans l'eau. Il considère, en résumé, la sécrétion de pepsine comme évidente, et il ajoute qu'elle est plus abondante après addition de petits insectes. En même temps, il a observé dans les glandes un phénomène d'agrégation.

Ces observations de Hooker firent grand bruit et eurent pour résultat la publication d'un certain nombre de travaux sur le même sujet. L'année suivante, en 1875, Lawson-Tait [1] annonça la préparation d'une substance analogue à la pepsine, provenant du liquide des urnes. Il admet une différence entre le contenu des urnes ouvertes ou fermées. Les premières sont toujours acides, riches en ferments, et il en conclut que l'excitation provoque non seulement la sécrétion de l'acide, mais encore de la zymase.

La même année, à l'Académie royale des sciences de Belgique, Édouard Morren [2] lut son mémoire sur les plantes carnivores, dans lequel il admet complètement les idées de Darwin et de Hooker, qu'il avait combattues auparavant. Comme ses recherches n'ont pas porté sur le *Nepenthes*, il n'est pas nécessaire de s'y attarder.

En 1876 parut le travail de Gorup-Besanez [3] dont la lecture ne peut laisser aucun doute quant à une action protéolytique du liquide des urnes. Celui-ci, pris dans des urnes ouvertes et fermées, provenait de deux espèces : les *Nepenthes phyllamphora* et *gracilis*.

Les liquides étudiés par Gorup-Besanez devaient être d'une activité remarquable, car la digestion artificielle dans ceux-ci marchait avec une surprenante rapidité. C'est ainsi qu'en présence d'acide chlorhydrique, la fibrine était dissoute en un quart d'heure. Après deux heures, à 40°, toute la fibrine était peptonifiée : le liquide ne précipitait plus ni par les acides, ni par le ferrocyanure acétique, mais bien par le bichlorure de mercure, le tannin, l'acide phosphotungstique, et donnait une intense réaction de biuret. Le contenu des urnes non irritées était neutre et sans action. Mais si l'on ajoutait un acide, il semblait aussi actif que celui des urnes excitées. En présence d'un peu d'acide formique à 20°-30°, Gorup-Besanez a obtenu une solution presque immédiate de la fibrine et, en peu de temps, on ne pouvait déceler que de la peptone dans le liquide par la réaction du biuret. Les autres acides organiques étaient aussi très efficaces.

---

[1] Lawson-Tait, *Insectivorous plants.* (Nature, 1875, t. XII, p. 251.)

[2] Morren, *La théorie des plantes carnivores et irritables.* Bruxelles, 1876, 2e édition.

[3] Gorup-Besanez, *Sitzungsber. der phys.-med. Soc. zu Erlangen,* 1875-1876, S. 152.

D'après ces expériences, les liquides devaient être plus actifs que la pepsine même, car je ne pense pas qu'on puisse avec celle-ci obtenir à 20°-30° une peptonification complète en deux heures. Aucun auteur, après Gorup-Besanez, ne signale une activité pareille de ces liquides de *Nepenthes*. Cependant, au point de vue chimique, les expériences semblent avoir été très méthodiques et dépassent en précision toutes celles faites antérieurement ou postérieurement. En tous cas, Gorup-Besanez conclut de ses expériences que les urnes non irritées sont neutres ; que le liquide des urnes, irritées ou non, renferme un ferment qui n'agit qu'en milieu acide et par suite est analogue à la pepsine. Il n'existe aucun ferment diastasique dans l'urne.

Pfeffer [1], l'année suivante, publia son mémoire sur les plantes insectivores dans lequel il confirme les idées de Hooker et de Gorup-Besanez. En même temps, Vines [2] annonçait qu'il était possible d'obtenir un extrait glycérique des urnes doué d'une action digestive très manifeste sur la fibrine, mais moins intense que celle du liquide même. Il en tira la conclusion que les tissus renfermaient un zymogène semblable à celui qui était supposé exister dans les glandes de l'estomac. Mais il y a lieu de faire de grandes réserves quant à l'existence réelle des zymogènes ou prozymases ; car ces substances sont encore purement hypothétiques et on les a surtout admises afin de rendre compte de certaines influences inhibitrices qui se manifestent parfois dans les recherches sur les zymases. D'ailleurs, Vines lui-même, dans un travail ultérieur, dit qu'il n'a pu caractériser un zymogène dans l'urne.

---

[1] PFEFFER, *Ueber fleischfressende Pflanzen*, etc. (LANDWIRTHSCH. JAHRBÜCHER, 1877.)

[2] VINES, *Journ. Linn. Soc.*, 1877, t. XV, p. 427.

Après ces travaux, il y eut un temps d'arrêt dans l'étude de la digestion des *Nepenthes;* et quoique à cette époque les Bactéries jouassent un rôle prédominant dans les recherches scientifiques, ce ne fut que beaucoup plus tard, en 1890, qu'on chercha à leur attribuer la principale action dans cette digestion. Dans une note très peu documentée, R. Dubois contredit l'opinion de Hooker et attribue encore, à cette époque, à Morren, l'opinion que celui-ci avait déjà abandonnée quinze ans auparavant. Les expériences de Dubois [1] ne sont pas à l'abri de la critique. Il semble ignorer le travail de Gorup-Besanez, signalant le liquide d'urnes fermées comme légèrement acide, et il ne vérifie pas si l'absence de digestion dans ce cas n'est pas due à l'insuffisance de l'acide. D'autre part, il n'indique pas la réaction du liquide des urnes ouvertes. Il constate que celui-ci, mis à l'étuve, est rapidement envahi par les Bactéries, et il en déduit, sans faire aucune expérience de contrôle, que les phénomènes digestifs qui se passent dans cet essai, sont uniquement le fait des micro-organismes.

Néanmoins, R. Dubois conclut qu'il n'y a pas de suc digestif, que les *Nepenthes* ne sont pas des plantes carnivores, et que « les phénomènes » de désagrégation ou de fausse digestion observés par M. Hooker » étaient dus sans aucun doute à l'activité des micro-organismes venus » du dehors et non à une sécrétion de la plante ».

Tischutkin [2] reprit la même idée. Il dit qu'il n'existe pas de zymase; mais comme son travail est écrit en russe, les détails de ses recherches me sont inconnus; et il n'est pas possible de déterminer, par le court résumé en allemand qui a été publié, les causes d'erreur auxquelles ses résultats doivent être attribués.

Les recherches de Goebel [3] vinrent bientôt mettre de nouveau en évidence l'action d'une zymase. Avec raison, il attire immédiatement l'attention sur ce fait que la digestion des *Nepenthes* présente de grandes différences suivant l'état de santé de la plante. Les urnes ne réagissent pas toujours fortement dans nos serres; leur activité est très variable et il est nécessaire d'opérer sur des individus en pleine croissance. Il cite le cas d'une plante de *N. paradisiaca*, dont deux des trois urnes donnèrent un liquide digérant la fibrine très rapidement, mais moins vite que dans les recherches de Gorup-Besanez. En trois heures, il ne peut plus constater que des peptones. Malheureusement, l'auteur ne dit pas comment il s'est assuré de ce fait.

---

[1] DUBOIS, R., *Sur le prétendu pouvoir digestif du liquide de l'urne des* Nepenthes. (COMPTES RENDUS, 111, 1890, pp. 315-317.)

[2] TISCHUTKIN, *Ueber die Rolle der Mikroorganismen bei der Ernährung der insektfressenden Pflanzen.* (BOT. CENTRBL., 50, 1892, S. 304.)

[3] GOEBEL, *loc. cit.*

De nombreux essais de cultures lui permettent d'affirmer l'absence de bactéries dans le liquide. Quant à l'acide sécrété dans les urnes, Goebel semble admettre, à cause de son pouvoir antiseptique, que c'est de l'acide formique, mais il n'appuie cette déduction sur aucune autre preuve.

La réaction du liquide des urnes non ouvertes varie avec les espèces. Le *N. paradisiaca* est neutre. Le *N. Mastersiana* est fortement acide, et ce liquide dissolvait la fibrine en trois jours.

Goebel semble souvent considérer la dissolution de la fibrine comme le critérium d'une digestion. Il essaie d'expliquer les résultats de Gorup-Besanez en les attribuant à l'emploi d'une plus grande quantité de liquide provenant de la réunion de plusieurs urnes. Mais, dans la vitesse de digestion, c'est bien plus la concentration de la zymase qui agit, que la quantité de liquide d'urne mis en présence. Et dans toutes ces expériences, un facteur n'est jamais défini : on n'indique pas la quantité de fibrine ajoutée, proportionnellement au volume du liquide.

Quoi qu'il en soit de ces critiques, il ressort bien de tous ces travaux que l'urne normale digère en l'absence de microorganismes. Goebel démontre en outre qu'elle absorbe les produits de la digestion et qu'une solution de peptones ajoutée dans l'urne est absorbée rapidement.

Vines[1], l'année dernière, a repris l'étude de la zymase. Dans son nouveau travail, il s'applique surtout à réfuter les vues de Dubois et de Tischutkin, et à mettre en évidence l'action d'un ferment soluble. Par l'alcool, il précipite du liquide des urnes une substance douée d'une très faible activité. Tous ses essais de digestion sont faits en présence d'acide chlorhydrique et certains aussi en présence d'antiseptiques, ce qui lui permet d'exclure toute idée d'intervention bactérienne. Il obtient dans ses liquides la réaction du biuret.

---

[1] Vines, *The proteolytic enzyme of Nepenthes.* (Annals of Botany, 1897, vol. XI, p. 563.)

Il a fait aussi des extraits glycériques des urnes qui sont actifs, surtout si l'urne est jeune. Comme action protéolytique de ces enzymes, il ne considère que la dissolution de la fibrine.

Dans un chapitre spécial, Vines étudie les produits de la digestion et ses résultats diffèrent beaucoup de ceux de Gorup-Besanez. Il n'a pu déceler de véritable peptone et croit que son albuminoïde était surtout transformé en albumose. Quant au produit ultime de la digestion, il ne semble pas éloigné d'admettre qu'il pourrait se former de la leucine, d'après une réaction très douteuse qu'il obtient et quoique la digestion ne semble pas avoir dépassé le stade albumose.

Tel est, en résumé, l'état de nos connaissances sur l'action du liquide des urnes de *Nepenthes*. Son pouvoir protéolytique est évident et il semble bien qu'il soit dû à une sorte de pepsine. Mais pour caractériser cette zymase, il est nécessaire de suivre la marche de son action sur les substances albuminoïdes; et je crois utile, dans ces conditions, d'exposer rapidement, comme introduction à mes recherches personnelles, les données actuellement admises sur les ferments protéolytiques et les produits de leur action.

## IV.

### CONSIDÉRATIONS SUR LES ZYMASES PROTÉOLYTIQUES ET LEURS PRODUITS DE DÉDOUBLEMENT.

Les substances albuminoïdes, pour être assimilées, doivent subir des modifications plus ou moins profondes. Quelques-unes de ces modifications peuvent être produites par des acides à faible concentration, même par des solutions salines d'après les recherches de Dastre, mais la phase caractéristique dans la digestion de ces substances est, sans contredit, leur transformation en peptones, sous l'influence de zymases particulières.

Ces zymases, ou ferments protéolytiques, sont encore peu connues actuellement. Leur composition chimique n'est pas déterminée et aucune n'a été préparée dans un état de pureté suffisant pour en étudier les divers caractères. Seule, la fonction protéolytique permet de déceler leur présence dans un liquide ou dans un tissu organique ; et, suivant que l'action se manifeste en milieu acide ou en milieu alcalin, on les classe en deux groupes principaux : les pepsines et les trypsines ou pancréatines. Ces deux sortes de ferments solubles sont particulièrement répandus dans le règne animal ; mais le rôle principal dans la digestion est surtout dévolu à la trypsine, qui souvent même existe seule chez les Invertébrés, d'après les recherches de Fredericq.

Dans les plantes on les retrouve également. Le mieux étudié de ces ferments végétaux est la papayotine ou papaïne, qui agit principalement en milieu alcalin et en milieu neutre, mais qui, en solution légèrement acide, est encore capable d'une certaine action. A côté de cette papaïne que l'on trouve dans les laticifères du *Carica Papaya*, on connaît quelques autres substances analogues retirées de divers latex (*Ficus*, *Cucumis*) ou du suc de certaines plantes comme les Ananas, etc. De même dans les graines en germination, il en existe également. Leur séparation n'a été faite qu'incomplètement, et leur présence, le plus souvent, n'a été établie que par les produits de dédoublement, par l'existence de petites quantités de peptones ou par les acides amidés qui apparaissent généralement, et parfois en abondance, lors du développement du jeune embryon. Toutefois, il n'est pas démontré que dans ces graines en germination les acides amidés et les autres substances azotées que l'on y rencontre soient bien le résultat de l'action d'une vraie zymase.

L'étude de ces ferments protéolytiques est d'autant plus complexe que nous ne connaissons que très imparfaitement la constitution des substances albuminoïdes. Cette question a fait un certain pas en avant dans ces dernières années, et désormais les essais des diverses zymases pourront s'entreprendre sur des substances protéiques pures, à molécules mieux connues. Déjà, dans cet ordre d'idées, on peut citer les recherches de Kossel sur l'action de la trypsine sur la protamine, qui montrent nettement la supériorité du pouvoir protéolytique de la trypsine sur celui de la pepsine.

Mais à part ces très récents travaux, l'action des ferments digestifs a surtout été étudiée sur de la fibrine, du blanc d'œuf, de la viande, etc., c'est-à-dire sur des mélanges de divers albuminoïdes. Dans ces conditions, il est bien difficile de déterminer si tous les produits de dédoublement que l'on a observés dérivent réellement les uns des autres, ou s'ils n'ont pas des origines diverses, s'ils ne dérivent pas d'albuminoïdes différents.

De même que dans la saccharification de l'amidon par l'amylase, l'hydrate de carbone passe par divers états avant d'être transformé en maltose, de même aussi, le blanc d'œuf, par exemple, n'est pas directement changé en peptones sous l'influence de la pepsine, et il se produit également des corps transitoires. En outre, le terme ultime de l'action peut varier suivant le ferment en présence. L'amylase ne modifie plus la maltose, mais ce disaccharide est dédoublé en hexoses par la maltase. Le stade hexose est le terme ultime de l'action de ces diastases, tandis que l'enzyme de Buchner attaque l'hexose et produit de l'alcool et de l'anhydride carbonique.

Jusqu'où peuvent aller les ferments protéolytiques dans leur action ? Tout ce que nous savons à ce sujet, c'est que la trypsine pousse la décomposition de la molécule albuminoïde beaucoup plus loin que la pepsine et qu'une partie tout au moins de cette molécule est transformée en leucine, tyrosine, acides amidés, à côté de peptones qui ne se modifient plus. La recherche de ces produits ultimes de la digestion présente donc une grande importance, car elle permet de distinguer le ferment agissant; et elle pourrait aussi permettre de déterminer s'il existe plusieurs pepsines et trypsines. Il serait surtout intéressant de s'assurer si ces dernières ont parfois une action plus profonde encore que la pancréatine; et ce serait dans le règne végétal qu'il faudrait les chercher, dans les graines en germination où apparaissent en quantité les acides amidés, l'asparagine, etc., ou dans les sécrétions des Bactéries et des moisissures capables de transformer l'azote des matières protéiques en azote ammoniacal.

Quelle est la marche de la peptonification sous l'influence des zymases[1] ? Différentes opinions ont été émises à ce sujet, mais je m'arrêterai uniquement ici aux idées de Kühne et de ses élèves, qui sont le plus généralement adoptées actuellement.

Par l'action de la pepsine en présence d'acide (2 °/₀₀ acide chlorhydrique), il se produit une solubilisation des albuminoïdes non dissous, ou coagulés. La fibrine, le blanc d'œuf cuit, se gonflent, deviennent transparents et se dissolvent en se transformant en *syntonines* ou *acidalbumines* (propeptone de certains auteurs). Cette modification peut se faire indépendamment de la pepsine, sous l'action des acides seuls; mais toutefois la présence de la pepsine semble l'accélérer.

---

[1] Voir Neumeister, *Physiol. Chemie*, 1893, t. I.

Ensuite les syntonines sont modifiées par la zymase et transformées en *albumoses* ou matières albuminoïdes solubles dans l'eau et non coagulables par la chaleur. Suivant les auteurs, ces albumoses portent différents noms : hémialbumines, propeptones, para- ou métapeptones. Nous n'avons pas à entrer ici dans la discussion des caractères de ces diverses substances, qui représentent bien plutôt des noms donnés à des mélanges que de véritables entités chimiques. Mais leurs caractères essentiels sont leur solubilité dans l'eau, leur non-coagulation par la chaleur et surtout leur précipitation par le sulfate ammonique à saturation. D'après cela, nous pouvons donc définir les albumoses comme des matières protéiques dédoublées, encore colloïdes, et qui ne sont plus modifiées par la chaleur.

Si on laisse l'action de la pepsine se continuer, les albumoses disparaissent à leur tour, mais plus lentement, et sont changées en *peptones*, que le sulfate d'ammoniaque à saturation ne précipite plus et qui présentent une véritable solubilité dans l'eau .

De même que les albumoses, les peptones des divers auteurs ont des caractères différents, qui s'appliquent dans certains cas à des mélanges de peptones et d'albumoses. Existe-t-il aussi plusieurs peptones, suivant les albuminoïdes digérés? Les peptones sont très mal connues encore actuellement. Pour les uns, elles conservent sensiblement la composition centésimale des albumines dont elles dérivent; pour les autres, le soufre diminuerait ou disparaîtrait même de leur molécule. Que devient-il? Est-il minéralisé en totalité ou en partie, comme dans la germination des graines? Il serait très intéressant d'élucider cette question.

Dans ce travail, je n'avais à envisager que la digestion en présence d'acide, que la digestion peptique, et il est donc inutile de mentionner ici les modifications successives que la trypsine en milieu alcalin fait subir aux matières protéiques. Mais comme j'aurai à examiner l'action digestive des divers liquides acides des urnes de *Nepenthes*, j'ai tenu à exposer avec quelques détails la marche de la digestion par la pepsine.

Le critérium de celle-ci est la présence de peptones, et voici, d'après mes recherches, les caractères que j'attribue à ces peptones.

Elles sont solubles dans l'eau, et la chaleur n'a pas d'action sur leur solution. Elles ne sont précipitées ni par les sels à saturation, même le sulfate ammonique à chaud ou à froid, ni par les acides, ni par le ferrocyanure de potassium en présence d'acide acétique.

Elles sont précipitées par un certain nombre de réactifs, et surtout, en présence d'acide, par l'acide phosphotungstique, l'acide phosphomolybdique et le tannin.

Les peptones que j'ai préparées, séparées aussi complètement que possible des albumoses, ne précipitaient plus en solutions assez diluées par l'iodure de potassium iodé, par l'iodure double de mercure et de potassium, ni par l'acide picrique.

En présence de soude caustique et d'une trace de sulfate de cuivre, elles donnent, en solution même très diluée, une coloration rose : réaction du biuret.

Dans la suite de ce travail, je considère comme peptones uniquement les substances qui présentent ces propriétés.

# SECONDE PARTIE.

## RECHERCHES PERSONNELLES.

## I.

### Substances employées dans ces recherches.

La plupart des auteurs qui ont étudié la digestion chez les plantes carnivores et, en particulier, chez les *Nepenthes,* ont toujours eu recours soit à la fibrine, soit au blanc d'œuf coagulé découpé en petits fragments; et l'intensité de la digestion se déterminait d'après la rapidité avec laquelle disparaissaient les substances ajoutées.

Mes expériences ont été commencées sur des plantes se trouvant dans leur état naturel, sur le *Nepenthes melamphora*, pendant un séjour dans la forêt de Tjibodas, sur le mont Gedeh, un des volcans de l'île de Java. Cette espèce très répandue croît à une altitude variant de 1,500 à 2,200 mètres, c'est-à-dire dans une zone où la température est très modérée et ne dépasse guère 18 à 28° au milieu de la journée. Dans ces conditions, les actions protéolytiques sont très ralenties et je m'en suis rapidement aperçu. J'avais employé pour mes premières recherches du blanc d'œuf cuit que je coupais en tranches très minces à l'aide d'un rasoir. A cet endroit, je n'avais pas de fibrine à ma disposition. Sur les tranches même très minces de blanc d'œuf, je pus constater bientôt avec quelle lenteur se produisaient les modifications les plus légères. Au bout de deux jours, dans des urnes de belle dimension, les fragments commençaient à devenir transparents et ne montraient qu'une corrosion insignifiante des bords. Puis, au bout d'un certain temps, on pouvait voir, au microscope, que quelques Bactéries et des filaments mycéliens finissaient par se développer à la surface de certains de ces morceaux d'albumine, provenant sans doute du rasoir ou des pinces employés lors de la préparation des tranches, ou bien aussi des poussières atmosphériques. Il y avait donc là une cause d'erreur qu'il fallait empêcher, en même temps qu'il était nécessaire d'employer une méthode qui permît une digestion plus rapide.

J'ai alors pensé à donner le blanc d'œuf, la seule substance albuminoïde convenable que j'avais à ma disposition, sous une autre forme, sous forme liquide, sous forme de blanc d'œuf dilué, rendu incoagulable par la chaleur.

Un certain nombre de substances ont la propriété d'empêcher la coagulation par la chaleur des albuminoïdes [1]. Je citerai, entre autres, le nitrate d'urée et le sulfate de fer. Pour le but proposé, ce dernier sel convenait surtout; car la proportion à ajouter à l'albumine est réellement insignifiante et ne doit avoir aucune action modificatrice sur l'activité du liquide digestif à expérimenter. Il suffit, en effet, d'ajouter un millionième de sulfate ferreux cristallisé à du blanc d'œuf dilué de neuf fois son volume d'eau pour empêcher complètement sa coagulation par la chaleur.

Mon liquide était donc préparé de la façon suivante : à 10 c. c. d'albumine d'œuf, j'ajoutais 90 c. c. d'eau. Le mélange était fortement agité à plusieurs reprises pour briser les membranes du blanc d'œuf et dissoudre toute l'albumine. Après l'avoir filtré, j'y mettais la quantité indiquée de sulfate ferreux, c'est-à-dire un dixième de milligramme. N'étant pas à même de peser avec une telle précision à cet endroit, j'opérais à l'aide d'un liquide titré et je laissais tomber par 100 c. c. de liquide albuminé deux gouttes d'une solution de sulfate ferreux à 0.10 °/₀, préparée au moment même de l'emploi, car à cette dilution ce sel est rapidement dissocié dans l'eau pure. Lorsque l'œuf n'est pas absolument frais, il est bon d'augmenter un peu la quantité de fer, mais sans dépasser toutefois un cent-millième ou 1 milligramme par 100 c. c. On peut alors porter le liquide à l'ébullition : il reste limpide et acquiert seulement parfois une très faible opalescence.

Ce liquide albumineux incoagulable présente de grands avantages, surtout dans le cas présent. Pouvant être bouilli à volonté, il est d'une stérilisation très aisée, ce qui permet d'opérer avec lui d'une façon absolument aseptique et avec la plus grande facilité. Cette précaution était nécessaire pour montrer l'inexactitude des conclusions de Dubois et de Tischutkin. Ce liquide pouvait être introduit d'une façon tout à fait aseptique dans des urnes encore fermées, au moyen de pipettes très effilées, stérilisées et flambées, dont la pointe était enfoncée dans la paroi, préalablement stérilisée, de la portion supérieure de l'urne. L'ouverture presque imperceptible produite par la mince pipette était ensuite fermée au moyen d'un peu de vaseline.

---

[1] G. Clautriau, *Sur la variation du point de coagulation des albuminoïdes*. (Bulletin de la Société belge de microscopie, t. XVIII, p. 157, ou Recueil de l'Institut botanique de Bruxelles, t. II.)

Un autre avantage que présente l'albumine incoagulable est la facilité avec laquelle on peut déterminer les quantités d'albumine que l'on donne aux urnes et faire des essais comparatifs très précis. Mon installation dans la forêt vierge était des plus sommaires : quelques tubes à réactifs, quelques éprouvettes, quelques ballons, quelques tubes de verre pour faire des pipettes, une lampe à alcool et quelques réactifs. Muni de ces accessoires, je pouvais sans peine préparer des dilutions connues de mon liquide albumineux et juger facilement, par comparaison, de la disparition plus ou moins complète de l'albumine ajoutée dans les urnes.

Enfin, pour certaines expériences, il est très utile de pouvoir se servir toujours d'un même liquide, de façon à se trouver chaque fois dans des conditions aussi identiques que possible. Or, cette albumine liquide se conserve indéfiniment, si l'on prend la précaution de la chauffer à l'ébullition chaque fois que le ballon qui la renferme a été ouvert.

A l'examen chimique, cette albumine incoagulable se comporte comme les autres liquides albumineux. Pour la rendre de nouveau coagulable par la chaleur, il suffit d'y ajouter un peu d'un sel alcalin et d'acidifier très légèrement. L'albumine se coagule alors par la chaleur. De même, les zymases agissent sur elle tout aussi bien que sur un autre liquide de blanc d'œuf, et j'ai pu me convaincre, par des expériences comparatives faites ultérieurement en Europe, que les diverses phases de la digestion par la pepsine n'étaient en rien influencées par la minime proportion de fer ajoutée. En outre, par les expériences faites dans les urnes, j'ai constaté qu'elle n'exerçait aucune action nuisible ni sur le liquide, ni sur les tissus des urnes qui sont cependant d'une extrême sensibilité à la plupart des substances toxiques ou anesthésiques, même employées en très minimes quantités, ainsi que j'ai pu m'en assurer à maintes reprises.

## II.

## Observations biologiques et recherches physiologiques sur le *Nepenthes melamphora*.

Cette espèce est très répandue à Java et se retrouve dans presque toutes les forêts de l'ouest de cette île, à partir de l'altitude de 1,400 à 1,500 mètres. Suivant les conditions locales, elle peut s'élever plus ou moins haut. Sur le mont Gedeh, j'ai pu en voir des spécimens à 1,900 mètres; et, sur le sommet du Salak, non loin du point culminant de ce volcan, à une hauteur d'environ 2,200 mètres, j'en ai observé quelques magnifiques exemplaires épiphytes possédant des urnes de très grande dimension, et certainement les plus grandes que j'aie vues à Java. Dans les forêts du mont Malabar (île de Java), aux environs des plantations de Quinquina, la plante se retrouve à une altitude moyenne de 1,600 à 1,900 mètres. Enfin, je l'ai rencontrée encore sur les sommets qui avoisinent Garout et surtout, en un habitat très spécial, sur le volcan Gountour, près de cette ville.

Dans la forêt de Tjibodas, sur le Gedeh, où j'ai surtout eu l'occasion de l'observer longuement et en très nombreux exemplaires, ce *Nepenthes* peut vivre indifféremment, soit comme un véritable épiphyte, soit comme une plante terrestre grimpante; mais son véritable mode de vie est certainement de croître en s'accrochant aux troncs d'arbres. En beaucoup d'endroits, on le rencontre au milieu des autres épiphytes dont il présente d'ailleurs les caractères. C'est ainsi que ses graines sont très petites, très légères; et son urne, si particulière, peut et doit s'interpréter en même temps comme un réservoir d'eau, car cette eau n'est pas perdue pour la plante; elle est résorbée, même si elle n'a pu jouer le rôle de liquide digestif.

Dans la forêt, il se montre toujours dans la zone riche en épiphytes, dans la zone humide, et l'on pourrait croire, d'après cela, que l'arbre, comme support et comme ombrage, lui soit nécessaire; mais sur le Gountour, dont j'ai parlé plus haut, on le trouve en abondance et en plein soleil, à partir de son altitude ordinaire. Et cependant, il n'y a pas là de forêt, il n'y a même plus d'arbre. Le volcan est sujet à des éruptions formidables dont la dernière, qui date à peine du milieu de ce siècle, a complètement recouvert le cône volcanique d'une épaisse couche de cendres et de pierres, comme le font la plupart des volcans javanais. Il n'y a qu'une étroite bande de lave, d'un côté, vers le bas, aux environs de laquelle, en dessous de 1,000 mètres, se rencontre une flore nettement xérophile.

Dans ce sol, l'eau ne séjourne pas, l'humidité y est très faible pendant les heures chaudes de la journée et, par suite, dès que la pente de la montagne commence à s'accentuer, vers 700 à 800 mètres, la végétation ligneuse disparaît : de loin en loin, un arbrisseau s'abrite et végète dans un endroit raviné et, vers le sommet, se rencontrent seules quelques touffes d'un *Rubus*. Mais les plantes herbacées ne manquent nulle part : une flore assez nombreuse a envahi la montagne jusqu'à son sommet et, chose curieuse, la plupart des espèces qui la constituent ne sont pas des plantes terrestres : ce sont des épiphytes. Et c'est un spectacle étrange pour le botaniste que cette flore du Gountour à partir de 1,500 mètres : c'est avec une véritable stupéfaction que l'on contemple, poussant à terre, dans la cendre et entre les pierres calcinées, toute la végétation que l'on n'avait vue jusqu'alors que dans la forêt vierge, accrochée aux branches d'arbres, fuyant la terre et ne s'exposant pas au soleil. On n'y trouve pour ainsi dire que des épiphytes : Fougères délicates aux rhizomes charnus, Orchidacées diverses avec leurs multiples adaptations à la vie arboricole. Et, entre elles, croissent nombreux les *Nepenthes*, dressant leurs urnes sur le sol rocailleux ou bien les accrochant aux maigres rameaux de quelque misérable arbuste, à moitié desséché, envahi par les Lichens, à côté de pauvres touffes de Graminacées, jaunies, brûlées par le soleil.

C'est le vent qui a amené là tous ces épiphytes aux graines légères, aux réservoirs d'eau qui leur permettent de vivre accrochés à l'écorce sèche des arbres de la forêt, ou implantés dans la cendre à peine humide, du moment où leur feuille baigne dans une atmosphère suffisamment chargée d'humidité.

Dans leur végétation, les *Nepenthes* débutent par une rosette radicale de feuilles munies toutes d'une urne très développée ; et généralement, dans ces rosettes, la partie assimilatrice de la feuille ou portion élargie du pétiole est relativement réduite, de même que la partie intermédiaire filiforme et irritable. De cette rosette radicale s'élève ensuite une tige arrondie, verte, munie de feuilles alternes présentant l'aspect typique des feuilles de *Nepenthes*. Cette tige prend un développement plus ou moins considérable et s'élève entre les branches des arbres, gracieusement soutenue par les vrilles foliaires. Goebel cite une dizaine de mètres comme une longueur très grande atteinte par ces tiges ; mais il en existe qui sont trois ou quatre fois plus longues, d'après un exemplaire que j'ai vu à Tertasari et qui provenait de la forêt qui recouvre le mont Malabar.

Il y a un certain dimorphisme entre les urnes appartenant à la rosette foliaire et celles portées par les feuilles de la tige. Les premières sont beaucoup plus colorées, parfois presque entièrement rougeâtres et ont une forme plus trapue, renflée à la base, dans le genre des urnes de *N. Rafflesiana*, tandis que les secondes n'ont généralement pas une couleur aussi voyante, sont même très souvent tout à fait vertes, plus élancées de forme, amincies vers la partie inférieure, comme les urnes de *N. Mastersiana*. Mais ce dimorphisme n'est pas absolu, et surtout chez les individus vivant en épiphytes, l'aspect des urnes se rapproche souvent de celui des rosettes foliaires dont elles présentent aussi la coloration.

Il n'est pas exact que les rameaux grimpants soient privés d'urnes. Dans les conditions normales, chaque feuille, accrochée ou non, en porte; et ce n'est qu'au moment de la floraison, que les feuilles voisines de l'inflorescence se réduisent à la lame assimilatrice avec une vrille rudimentaire, ainsi que le signale Goebel.

D'après Haberlandt et Massart, qui, à quelques années d'intervalle, ont observé ces *N. melamphora* dans la forêt de Tjibodas, les urnes ne renfermeraient que de rares débris d'insectes et ces auteurs les considèrent un peu comme une adaptation de luxe, très coûteuse pour les services rendus à la plante. Je ne puis partager complètement cette opinion, car les urnes, à l'endroit même où Haberlandt et Massart les ont observées, ne sont généralement pas si pauvres en restes d'insectes. Surtout celles des rosettes foliaires en contiennent toujours et en certaine quantité. Les fortes accumulations de débris, telles qu'on en voit parfois dans les plantes cultivées en serre, sont rares. Mais il faut tenir compte de ce que dans les forêts de Java, et surtout à Tjibodas, les insectes, particulièrement les fourmis, ne sont pas très abondants. De cette pauvreté actuelle en petits animaux résulte peut-être l'absence de grandes masses de cadavres dans les urnes. Ne peut-on pas se demander si cette adaptation de la plante, qui lui est maintenant d'une utilité restreinte, ne lui a jamais été plus profitable? Par cette consommation incessante d'insectes que fait le *Nepenthes*, ne peut-il arriver à dépeupler lentement la région qu'il habite? A ce dernier point de vue, voici une observation faite à Tjibodas. Parmi les espèces de fourmis qui vivaient au voisinage de l'endroit où les *Nepenthes* étaient très répandus, il y en avait une qui était assez abondante, tandis que les autres étaient peu nombreuses. C'était une espèce assez grande, déambulant en file ininterrompue sur les Graminacées, les branches des arbustes et même les tiges de *Nepenthes*, en détours innombrables. Ces fourmis étaient très sociables, et jamais elles ne m'ont incommodé. Les nectaires des urnes les laissaient totalement indifférentes; et malgré leur grand nombre, ces fourmis, qui ne cessaient de passer à proximité des urnes, n'étaient presque jamais représentées parmi les animaux noyés au fond des urnes. Le plus grand nombre des cadavres appartenait au contraire à une autre espèce, plus petite, dont les individus vivants ne se voyaient que rarement et isolés.

Mais même à Tjibodas, cette pauvreté en restes d'animaux est loin d'être générale. Par endroits, et surtout si l'on s'enfonce dans la forêt en dehors des sentiers tracés, on peut trouver des touffes de plantes dont les captures sont bien plus importantes. En somme, on peut dire que si à Java cette plante ne capture pas d'énormes quantités d'insectes, c'est que les insectes à capturer sont peu nombreux. Cela s'observe très bien sur les *Nepenthes* du Gountour. A l'altitude la plus faible, où la végétation est le plus fournie et où, partant, les insectes sont plus nombreux, toutes les urnes contiennent des cadavres. Mais à mesure que l'on monte, que la végétation s'appauvrit en espèces, les *Nepenthes* restant toujours très nombreux, on constate que les débris diminuent beaucoup, et vers le sommet la plupart des urnes ne renferment plus d'insectes. Quoique fleurissant et fructifiant, ces plantes du sommet n'ont pas une très grande vigueur; ce qui peut être attribué aussi bien à l'aridité du sol qu'à l'absence d'insectes.

Le liquide de l'urne est incolore, légèrement visqueux. Il possède une certaine odeur très faible, plus accentuée lorsqu'il renferme des insectes, et rappelant certains miels.

Au goût, il est insipide; et j'ai pu m'en assurer pleinement dans l'ascension assez pénible, mais si intéressante, du Gountour. L'un des Malais qui m'accompagnaient, se désaltérait avec le liquide des urnes non ouvertes et je l'ai imité avec grand plaisir. J'ai ainsi avalé le contenu d'un très grand nombre d'urnes, qui me semblait très rafraîchissant par cette journée de soleil intense. On eût dit une eau un peu mucilagineuse, mais sans la moindre saveur désagréable.

La réaction de ce liquide varie suivant qu'il provient des urnes encore fermées ou déjà ouvertes; et, en ce qui concerne le *Nepenthes melamphora*, on peut dire que les urnes non excitées contiennent un liquide neutre. J'ai fait un grand nombre d'observations à ce sujet et toujours avec le même résultat. Comme réactif, j'employais un papier de tournesol ou une solution de teinture de tournesol très sensible, que j'avais préparée et sensibilisée moi-même.

Quelquefois, parmi les urnes non encore ouvertes, on en observe dont la réaction est devenue plus ou moins acide. Ce changement doit être attribué à ce que l'urne a subi un choc ou un froissement quelconque, ou à ce qu'un insecte ou sa larve a irrité ou lésé la paroi. En effet, expérimentalement, on peut faire apparaître l'acidité dans l'urne fermée. Il suffit de la secouer vivement et de la replacer ensuite dans sa position normale pour constater souvent, le lendemain, que le liquide rougit le tournesol.

L'introduction dans l'urne d'un corps étranger quelconque provoque la sécrétion de l'acide. Dans plusieurs urnes, non ouvertes, j'ai laissé tomber en perforant le couvercle le plus délicatement possible, de très minces tubes de verre étiré, longs de 1 à 2 centimètres. L'expérience m'a donné chaque fois le résultat attendu, c'est-à-dire l'apparition de l'acide.

Dans d'autres essais, j'ai aussi provoqué la sécrétion par l'addition uniquement de deux ou trois gouttes de teinture de tournesol. Par ce moyen, je m'assurais en même temps de la neutralité du contenu de l'urne au début de l'expérience, et le lendemain je pouvais immédiatement constater la réaction du liquide à sa coloration. Dans ces expériences, les précautions nécessaires étaient prises pour prévenir toutes les causes d'erreur.

Pour ces recherches, il est préférable d'expérimenter sur les urnes des rosettes foliaires. Celles-ci, développées sur le sol, ont pu former leurs urnes entre d'autres plantes qui les fixent, qui les calent en quelque sorte, et les maintiennent immobiles. Les urnes aériennes sont moins favorables, car elles peuvent avoir été agitées soit par le vent, par des oiseaux, etc.

Il arrive assez souvent que des urnes à peine entr'ouvertes, ou même encore fermées, soient déjà acides. Par transparence, on ne voit aucun dépôt foncé au fond du liquide; mais si l'on transvase celui-ci dans un tube, on y constatera souvent la présence de larves vivantes.

Il est très curieux que ce fait n'ait jamais été observé et signalé. Cependant, beaucoup d'urnes renferment de ces larves vivantes. J'en ai observé deux espèces : l'une est la larve d'un moustique. Je m'en suis assuré en les laissant se développer dans le liquide sous une cloche de verre fermant hermétiquement. Au bout d'une semaine environ, il y avait deux moustiques sous la cloche. L'autre larve est beaucoup plus grande et plus rare. Elle mesure au moins trois fois la longueur de celle du moustique et est plus aplatie. J'ai tenté d'obtenir l'insecte parfait, mais au bout d'une dizaine de jours d'expérience, les larves sont mortes, et le nouvel essai que j'ai ensuite recommencé a dû être abandonné, la fin de mon séjour dans la forêt étant arrivée.

Quoi qu'il en soit de cette espèce, il est certain que des larves de moustique et d'un autre insecte peuvent effectuer tout le cycle de leur développement dans le liquide de l'urne. Ce fait, nouveau pour le *Nepenthes*, a été signalé déjà pour les urnes de *Sarracenia*. Morren énumère les espèces qui y ont été rencontrées ; et Goebel, rappelant cette particularité, semble l'expliquer par l'absence de zymase chez le *Sarracenia*.

Toutefois, l'existence de larves vivantes dans ces liquides n'exclut pas, à priori, la présence d'une zymase dans ceux-ci. Nombre de parasites vivent dans des liquides autrement actifs que le contenu des urnes de *Nepenthes*, sans en paraître incommodés. Ce sont là des contre-adaptations peu expliquées actuellement et qui sont à peu près du même ordre que la non-digestion de la muqueuse stomacale ou intestinale sous l'influence du suc gastrique ou du suc pancréatique.

Mais je pense qu'il faut considérer l'existence de ces larves vivantes comme une grande présomption en faveur de l'absence de substances toxiques ou anesthésiques dans les urnes. Beaucoup d'auteurs semblent admettre que la mort des animaux capturés est très rapide. Mes expériences ne concordent pas avec cette supposition. Dans des tubes en verre, j'ai mis une certaine quantité de liquide de *Nepenthes*. D'autres tubes, contenant une égale quantité d'eau, servaient de contrôle. J'ai alors laissé tomber des fourmis et quelques petits papillons dans ces tubes. Une grande différence se manifeste entre les deux sortes de liquide. Tandis que, dans l'eau, les insectes surnagent, se débattent longtemps et finissent presque toujours par pouvoir grimper le long de la paroi du tube, dans l'autre liquide, au contraire, on les voit, après s'être débattus quelque temps, s'enfoncer peu à peu, être ensuite complètement immergés, et enfin, finir par tomber au fond du récipient en n'exécutant plus que de faibles mouvements.

On ne peut mieux représenter cette différence des deux liquides, qu'en disant que l'eau pure ne mouillait pas les fourmis, tandis que le liquide des urnes les mouillait et les faisait s'enfoncer par leur propre poids.

En voyant les fourmis tomber ainsi promptement au fond du liquide, on est porté à croire qu'elles sont anesthésiées ou mortes. Cependant il n'en est rien. Laissons-les immergées plus ou moins longtemps : pendant deux ou trois heures, comme dans une expérience, ou même pendant une nuit entière, comme dans une autre expérience, puis lavons-les soigneusement à l'eau pure et séchons-les un peu. Très rapidement, on les voit, lorsque l'immersion n'a pas dépassé un demi-jour, recommencer à bouger, puis se remettre sur leurs pattes et finalement se mettre à marcher, cherchant une issue pour s'échapper. Elles paraissent cependant très malades, lorsque l'immersion s'est prolongée plus de trois ou quatre heures.

Avec le liquide préalablement bouilli, peu de fourmis se noient. Deux sur quinze seulement vont au fond du tube. Les autres ne sont pas mouillées et réussissent pour la plupart à s'échapper.

D'après ces expériences, il semble bien que les insectes qui tombent dans les urnes y meurent par asphyxie, et leur mort est peut-être activée par la sécrétion d'acide que leur présence provoque; mais il ne paraît pas y avoir une substance spéciale destinée à amener la mort rapide de l'insecte.

L'animal capturé dans l'urne finit par être digéré. Il est aisé de s'en assurer. Un simple examen microscopique des restes des insectes montre qu'ils ne sont plus constitués que par les revêtements chitineux et que tout le contenu a disparu. Le liquide de l'urne reste néanmoins absolument limpide, sans odeur désagréable, preuve qu'aucune putréfaction n'a dû se manifester, et la recherche microscopique confirme cette déduction.

La disparition du contenu albuminoïde de l'insecte n'est donc pas le fait de micro-organismes. J'aurais voulu en faire une démonstration plus complète encore, en ajoutant dans l'urne des substances empêchant le développement des Bactéries. Malheureusement, l'urne des *Nepenthes* est d'une sensibilité telle, que l'addition de substances antiseptiques, même en quantité excessivement faible, occasionne sa mort en peu de jours. Les matières que j'ai essayées comme antiseptiques sont le formol, le chloroforme, les essences de menthe et de citron, et le camphre. Déjà deux ou trois gouttes de teinture de tournesol, très faiblement alcoolisée, rendent l'urne malade au bout de quelques jours. La sécrétion acide provoquée d'abord par cette addition s'arrête très rapidement, et aucun phénomène digestif ne se manifeste plus sur l'albumine qu'on y ajoute, quoique, en apparence, l'urne continue à présenter un aspect normal. Ce n'est qu'au bout d'un temps assez long, plusieurs semaines parfois, — ou très rapidement si la substance nuisible est en plus grande quantité, — que l'on voit l'urne se rider et se dessécher extérieurement, tandis qu'à l'intérieur elle reste remplie de liquide.

Malgré l'impossibilité de recourir aux antiseptiques pour écarter toute idée d'une intervention microbienne au cours des phénomènes digestifs présentés par les *Nepenthes*, il est cependant facile de démontrer l'inexactitude des conclusions de Dubois et de Tischutkin en opérant aseptiquement. On y arrive très aisément. Il suffit, comme nous l'avons déjà dit, de se servir d'albumine incoagulable et d'opérer sur des urnes non encore ouvertes, dans lesquelles on suit la marche de la digestion, aussi longtemps qu'elles restent hermétiquement fermées.

Avec le blanc d'œuf cuit, je n'ai jamais pu obtenir une asepsie complète. Très souvent, le liquide ne paraissait contenir aucun germe; mais, chaque fois que j'observais, au microscope, le fragment d'albumine en voie de digestion, je constatais toujours que des Bactéries et des filaments mycéliens s'étaient développés à sa surface. Y avait-il peu de blanc d'œuf ajouté, le liquide de l'urne demeurait stérile et le développement microbien sur le morceau d'œuf était très lent. Au contraire, exagérait-on la quantité d'albumine dans l'urne, le liquide se troublait rapidement, devenait riche en micro-organismes, et finissait parfois par dégager une odeur plus ou moins accentuée.

Cette différence s'explique sans peine. A mesure que l'albumine se dissout, les glandes de l'urne l'absorbent rapidement et complètement, comme nous le verrons plus loin, et si la proportion de nourriture ajoutée est faible, le liquide du *Nepenthes*, constamment débarrassé de tout aliment azoté soluble, est impropre au développement des micro-organismes. Et en outre, sur le fragment d'œuf immergé dans ce liquide toujours en quelque sorte nettoyé, la multiplication des germes sera très lente, parce que les produits de leur activité protéolytique, au lieu de servir entièrement à leur nutrition, sont accaparés, pour la plus grande partie, par les glandes de l'urne.

Quand, au contraire, on met dans l'urne une proportion un peu forte d'albumine cuite, il peut arriver que la digestion soit plus active que l'absorption ; et, dans ce cas, le liquide de l'urne devient nutritif pour les microbes, qui l'envahissent sans retard.

Dans les expériences qui vont suivre, j'ai eu recours uniquement à l'emploi du blanc d'œuf incoagulable. Les urnes supportaient très bien l'addition d'une quantité même relativement forte de liquide albumineux et elles n'ont montré de signes de putréfaction ou d'envahissement microbien que dans des cas excessivement rares.

Le but principal que je visais maintenant était de pouvoir déceler dans l'urne la présence certaine, et en quantité appréciable, de peptones. J'ai donc ajouté le liquide albumineux à des urnes ouvertes et fermées, appartenant soit aux rameaux aériens, soit à la rosette basilaire, et toujours avec le même résultat : le liquide ajouté provoque ou exalte la réaction acide du contenu de l'urne. Dans certains cas où l'acidité me paraissait le plus forte, un dosage de celle-ci, aussi précis qu'il était possible de le faire avec mon installation rudimentaire, m'a donné une acidité correspondant à environ 2 c. c. par litre, de l'acide chlorhydrique que j'avais parmi mes réactifs et qui était à peine fumant.

Lorsqu'on ajoute l'albumine au liquide de l'urne, celui-ci prend une certaine opalescence, mais bientôt il s'éclaircit et le lendemain il est devenu tout à fait transparent, prenant d'ordinaire une légère teinte ambrée. Si on examine le liquide au bout de deux jours, on constate que toute l'albumine a disparu dans les urnes les plus vigoureuses, preuve que la digestion a été très active, et beaucoup plus active qu'avec le blanc d'œuf cuit, car la quantité de matière ajoutée sous forme liquide était infiniment plus considérable.

Il me semblait que, dans ces conditions, j'allais pouvoir déceler avec plus de facilité dans le liquide les produits de la digestion, et en plus grande quantité. Mais l'examen chimique n'a pas confirmé cette attente. Ainsi, par exemple, le liquide d'une urne qui avait reçu 5 c. c. d'albumine liquide, ne précipitait plus, au bout de deux jours, par la neutralisation, ni par l'ébullition en présence de sels ou d'acides. Essayé ensuite par le ferrocyanure acétique, par l'iodure de mercure et de potassium et par l'acide phosphomolybdique, il ne donnait que des réactions douteuses qui permettent de conclure qu'il ne restait plus que des traces de l'albumine ajoutée.

Des expériences de ce genre ont été répétées un grand nombre de fois et toujours avec ce même résultat, avec l'impossibilité d'affirmer la présence certaine de peptones vraies dans le liquide. Suivant que le contenu de l'urne était plus ou moins actif, suivant que l'expérience avait duré plus ou moins longtemps, toute ou une partie de l'albumine disparaissait, mais la proportion d'albumine non modifiée restant dans le liquide, n'influait en rien sur la quantité des produits de dédoublement. Ceux-ci ne semblaient pas plus abondants, soit que toute l'albumine, ou seulement une très faible partie, eût été digérée.

De ces recherches, je puis conclure que dans l'urne saine, sans l'intervention de microbes, l'albumine est rapidement modifiée et que les produits qui résultent de cette modification sont résorbés au fur et à mesure de leur production.

Par des expériences *in vitro*, j'ai voulu alors m'assurer si, dans cette digestion, le rôle de la plante consistait seulement à sécréter un acide et une zymase. S'il en était ainsi, le dédoublement des albumines dans le liquide d'urne devait se produire aussi bien en dehors que dans l'urne. J'ai donc entrepris une série de recherches *in vitro* avec des liquides d'urnes fermées et d'urnes ouvertes, additionnés d'un tiers d'albumine incoagulable. Une partie était laissée telle; une autre recevait quelques gouttes de chloroforme; une troisième était chauffée à 100°, avant ou après l'addition d'albumine. Les tubes bouchés étaient laissés en plein air auprès des plantes mêmes, dont quelques urnes, additionnées d'une quantité équivalente d'albumine, servaient de contrôle.

Dans ces conditions, aucune modification importante ne se produisit dans les tubes. Il n'y eut pas la moindre peptonification dans un seul, alors que les urnes témoins avaient tout absorbé rapidement.

La plante elle-même joue donc un rôle important dans la digestion ; je n'irai pourtant pas jusqu'à conclure, de ces expériences *in vitro*, à l'absence de toute zymase, car j'opérais à une température relativement basse.

Une fois seulement, j'ai pu obtenir *in vitro* la production de beaucoup d'albumoses, avec un liquide très actif provenant d'une urne fortement nourrie à plusieurs reprises. Le liquide de cette urne, après la troisième addition d'albumine, donnait à l'examen chimique très peu d'albumine et des réactions d'albumoses. J'y ajoute alors un tiers d'albumine, quelques gouttes de chloroforme, et je le laisse en tube fermé à l'intérieur du laboratoire, pendant trois jours. Au bout de ce temps, l'albumine avait presque complètement disparu; il y avait beaucoup d'albumoses probablement mélangées d'un peu de peptones.

Le résultat plus favorable obtenu ici est dû sans doute en partie à ce que la température était plus élevée et à ce que le liquide était très actif; car il semble bien que les urnes fortement nourries sécrètent davantage.

Comme les expériences *in vitro* ne m'avaient rien donné et afin de voir si cela n'était pas dû à ce que la transformation des albuminoïdes se fait principalement au contact des glandes, j'ai voulu examiner ce qui se passe lorsqu'on laisse la digestion se produire dans l'urne même, mais en arrêtant la résorption des produits de dédoublement. Pour cela, je séparais simplement l'urne de la plante et la laissais en place. Le résultat fut très remarquable. Plus aucune modification ne se produisit dans les urnes ainsi traitées. Si l'urne était encore fermée, la sécrétion d'acide n'avait pas lieu, et dans les urnes ouvertes on ne constatait que les seuls changements provoqués par l'acide préexistant. J'ai séparé les urnes à différents intervalles, après l'addition d'albumine, lorsque le dédoublement était bien en train, et toujours la séparation de l'urne d'avec la plante provoquait la même action inhibitrice sur la digestion de l'albumine.

Il semble donc bien qu'il existe chez ce *Nepenthes melamphora* une véritable régulation de la digestion. Celle-ci est provoquée par l'acide sécrété et sans doute aussi par une zymase que je n'ai pu caractériser ici, mais que l'on peut mettre en évidence chez d'autres espèces.

Je n'ai pas fait un examen microchimique très approfondi de cette espèce. Les glandes se distinguent surtout en ce qu'elles ont deux couches de cellules sécrétrices. Lorsqu'on les examine après addition d'albumine, on y constate une agrégation très manifeste.

Si l'on étudie comparativement les tissus des urnes adultes non nourries et ceux d'urnes ayant reçu de l'albumine, il semble bien que les cellules des urnes nourries montrent une certaine accumulation de matières protéiques. C'est surtout au voisinage des cellules spiralées qui partent des glandes, et des trachéides qui vont de ces cellules aux vaisseaux, que l'accumulation se manifeste. Comme réactif des matières protéiques, j'ai surtout employé la coloration par l'éosine, recommandée par Dewevre [1].

## III.

## Expériences sur divers *Nepenthes* cultivés en serre [2].

A. *Méthode employée pour la séparation des produits de la digestion.* — Dans mes nombreuses recherches à Java, je n'étais pas arrivé à pouvoir mettre en évidence la présence d'une véritable zymase dans le liquide des urnes de *Nepenthes melamphora*. Cependant, les travaux de Hooker, Gorup-Besanez, Goebel, Vines, etc., que nous avons mentionnés, ne peuvent laisser de doute sur l'existence d'un ferment protéolytique dans les espèces que ces auteurs ont étudiées, et d'après tout ce que l'on sait de son mode d'action, il semble bien qu'il appartienne au groupe des pepsines, c'est-à-dire des ferments agissant en milieu acide.

Nous avons déjà indiqué, dans un autre chapitre, quelle était la marche du dédoublement des albuminoïdes sous l'influence de la pepsine et nous avons donné rapidement les caractères des syntonines, albumoses et peptones.

Pour séparer ces divers produits de la digestion, nous avons adopté, dans toutes nos nouvelles recherches entreprises en Europe, la marche suivante indiquée par Neumeister.

Le liquide, après digestion, est neutralisé par de la soude caustique très faible pour séparer les syntonines. On filtre, ou même sans filtrer, on ajoute un égal volume de chlorure de sodium à saturation et, après addition d'une trace d'acide acétique, on chauffe le tout à l'ébullition; s'il reste des albumines, elles se coagulent.

On filtre ensuite et on sature à chaud par du sulfate ammonique en présence d'acide, puis en présence d'alcali; on laisse reposer quelque temps afin de permettre la réunion des albumoses devenues insolubles.

---

[1] Dewevre, A., *Recherches sur la technique microchimique des albuminoïdes.* (Bull. de la Soc. belge de Microscopie, t. XX, p. 91.)

[2] Les plantes qui ont servi à ces expériences étaient cultivées dans les serres du Jardin botanique de Bruxelles, et elles furent obligeamment mises à ma disposition par M. L. Lubbers, chef des cultures, auquel je tiens à exprimer ici toute ma gratitude

Dans le liquide filtré, s'il est très peu abondant, on peut faire directement la réaction du biuret qui n'est pas empêchée par la présence du sulfate ammonique, à condition d'ajouter un très grand excès de soude caustique de façon à décomposer tout le sel ammoniacal. Mais pour caractériser davantage les peptones, il faut décomposer le sulfate ammonique par le carbonate de baryum, précipiter l'excès de baryte par l'acide sulfurique dilué et concentrer le liquide. On s'assure alors dans celui-ci de l'absence d'albumoses par le ferrocyanure acétique et par l'iodure double de mercure et de potassium qui ne doivent pas donner de précipités, tandis que la peptone précipitera par les acides phosphotungstique et phosphomolybdique, par le tannin, et donnera une intense réaction de biuret.

Pour affirmer la présence de pepsine dans un liquide digestif, il est indispensable d'avoir pu caractériser les peptones, et il est nécessaire aussi de ne faire la réaction du biuret qu'après la séparation complète des albumoses.

Très souvent, et surtout dans le cas du *Nepenthes*, la marche de la digestion a été déduite de la rapidité avec laquelle se gonfle et se dissout la fibrine. Ce n'est pas suffisant. Ce phénomène n'est pas caractéristique et peut se manifester sous l'influence des acides seuls, quoique généralement d'une façon moins rapide. L'acide va même plus loin dans son action, et par digestion à l'étuve d'albumine d'œuf en présence de 2 °/₀₀ d'acide chlorhydrique, j'ai observé une transformation partielle en albumoses, qui donnent une réaction du biuret un peu plus violacée.

B. *Examen du liquide des urnes au point de vue de la présence de zymases.* — Une forte plante de *Nepenthes Mastersiana*, en pleine végétation, possède une urne de grande dimension, la seule que les nombreuses feuilles aient encore développée. Elle renferme une certaine quantité de liquide et beaucoup de cadavres d'insectes, des fourmis, et principalement ici des moustiques, très abondants dans la serre. J'enlève le liquide avec soin et le remplace par un mélange de 12 ½ centimètres cubes d'eau distillée et de 2 ½ centimètres cubes d'albumine incoagulable. Dans tous ces essais, la substance protéique employée sera chaque fois l'albumine incoagulable.

Le liquide retiré primitivement de l'urne et filtré (environ 9 centimètres cubes) est divisé en trois parties. A la première, *A*, j'ajoute 20 gouttes d'albumine; à la seconde, *B*, la même quantité plus une goutte d'acide chlorhydrique dilué, contenant 1 centigramme d'acide pur par goutte. La troisième, *C*, est d'abord chauffée vers 100° au bain-marie pendant dix minutes, puis a reçu, comme *B*, 20 gouttes d'albumine et 1 goutte d'acide chlorhydrique dilué. Comme antiseptique, j'ajoute dans chaque tube un fragment de camphre, et tous sont ensuite placés à l'étuve à 37°.

Après trois jours, j'examine le contenu des tubes. *A* ne renferme ni albumine, ni syntonine, et des traces douteuses d'albumoses. Il y a donc peptonification complète. L'examen de *B* donne des résultats identiques : tous deux ne contiennent plus que des peptones vraies. Enfin, dans *C*, l'albumine a disparu, il y a beaucoup de syntonine et une petite quantité d'albumose; pas de peptones.

La différence est donc bien nette. Le liquide chauffé ne contient pas de peptones, tandis que les deux autres ont toute leur albumine peptonifiée.

Il est intéressant de constater aussi que l'acidité propre de l'urne a été suffisante pour provoquer la peptonification complète et que par conséquent l'addition d'acide chlorhydrique, comme le font tous les auteurs, est absolument inutile.

Je dois dire que ce liquide était d'une activité remarquable. Un certain nombre d'autres liquides que j'ai examinés ensuite ne m'ont plus donné une peptonification aussi complète ni aussi rapide. Mais dans toutes les séries d'expériences analogues à celle que je viens de décrire, la différence entre l'action du liquide bouilli et celle du liquide non bouilli a toujours été des plus nettes : seul le liquide non chauffé était peptonisant.

Ainsi donc, la présence d'une zymase protéolytique est manifeste dans le liquide des urnes de *Nepenthes Mastersiana*. Mais la caractérisation des peptones présente assez souvent une certaine difficulté, parce qu'elle peut être la cause d'erreurs profondes si l'on se contente de la réaction du biuret. Chose curieuse, aucun auteur ne signale ce fait que le liquide des urnes de beaucoup d'espèces, lorsqu'il a déjà digéré, qu'il est devenu visqueux et a pris la teinte ambrée, renferme une substance qui se colore en rouge vineux par les alcalis. Par addition d'acide, le liquide devient jaune. Si le liquide est assez dilué, comme cela arrive après les divers traitements chimiques, la teinte rouge peut être assez faible pour ne plus paraître que rose, et quelqu'un de non prévenu pourrait parfois prendre cette teinte pour la teinte du biuret. Aussi, quand cette matière colorante existe, faut-il opérer par comparaison entre deux liquides ayant les mêmes quantités de soude caustique, mais dont un seul reçoit le sulfate de cuivre nécessaire pour produire la réaction du biuret.

Pour débarrasser le liquide de cette substance, le meilleur moyen est la clarification par l'albumine même, qui en se coagulant entraîne mécaniquement toute cette matière. Il en résulte que dans les liquides où il reste une certaine quantité de syntonine, en séparant celle-ci, on enlève du coup la matière colorante. Les albumoses en se précipitant font de même, et ce fait démontre aussi leur nature colloïde.

Les digestions artificielles dont je viens de donner les détails ont été faites à l'étuve à 37°. Il était intéressant de voir si à une température plus basse le phénomène se produisait encore et avec quelle intensité.

J'ai donc entrepris divers essais avec quelques urnes de *N. Mastersiana* et de *N. coccinea*. Le contenu de chacune était divisé en deux parties et recevait les mêmes quantités d'albumine et d'acide chlorhydrique; puis l'une des parties était mise à l'étuve, l'autre placée dans une armoire du laboratoire à environ 20° en cette saison. L'examen chimique fait au bout de deux et de cinq jours a montré chaque fois une très grande différence. Alors qu'à l'étuve il ne restait plus qu'un peu de syntonine et qu'il y avait beaucoup d'albumoses et de peptones, à la température ordinaire, par contre, l'inverse se constatait. Même après cinq jours la quantité de syntonine restait très forte, il n'y avait qu'un peu d'albumose et en général des traces douteuses de peptones. Ceci montre bien, comme on le savait déjà, que la température exerce une grande influence sur la marche de la protéolyse. A la température ordinaire, elle est très lente *in vitro*, et cependant à l'intérieur des urnes la *disparition* des albuminoïdes est très rapide.

Si, au point de vue de la présence d'acide dans les urnes non excitées, il y a divergence d'opinions entre les auteurs, ceux-ci semblent cependant être à peu près tous d'accord en ce qui concerne l'existence de zymase déjà dans l'urne très jeune. Gorup-Besanez avait montré dans ses expériences que le liquide des urnes non ouvertes, après addition d'acide chlorhydrique, lui présentait la même étonnante activité que les liquides d'urnes ouvertes; et, depuis lors, on admet que dans l'urne ouverte la zymase se trouve déjà et qu'il suffit d'une excitation, de la chute d'un insecte, pour provoquer une rapide sécrétion d'acide et rendre le liquide propre à digérer immédiatement.

Je ne pense pas que ce fait soit réellement démontré; car il ne faut pas perdre de vue que Gorup-Besanez n'a pas recueilli lui-même les liquides avec lesquels il a expérimenté.

Les essais que j'ai faits jusqu'à présent dans cet ordre d'idées me conduisent à une opinion opposée; mais mes expériences n'ont encore porté que sur le liquide de deux urnes fermées, une de *N. coccinea* et une d'un *Nepenthes* indéterminé de Bornéo, qui rappelle le *N. phyllamphora.* Ces liquides, additionnés d'albumine et d'acide chlorhydrique, et mis à l'étuve, n'ont donné qu'une digestion insignifiante. Après cinq ou six jours, on obtient encore un très abondant précipité de syntonine, un peu d'albumose et aucune réaction caractéristique de peptones.

Mais comme je n'ai à ce sujet que deux expériences, — concordantes toutefois, — je ne puis avancer actuellement d'une façon positive que la sécrétion de la zymase est, comme celle de l'acide, le résultat d'une excitation.

C. *Digestion dans l'urne.* — Nous savons que l'albumine est rapidement résorbée dans les urnes. J'ai répété à ce sujet, sur les *Nepenthes* des serres, des essais analogues à ceux faits à Java, et cela avec le même résultat.

Les *Nepenthes* supportent parfaitement, sans en être incommodés, des additions successives et abondantes d'albumine. L'urne de *N. Mastersiana*, dont j'avais enlevé le liquide pour servir à la caractérisation de la zymase, avait reçu ensuite 15 c. c. d'un liquide contenant 2 $^1/_2$ c. c. d'albumine. Quatre jours après, le liquide avait été résorbé en partie, mais le reste avait pris l'aspect visqueux, ambré, normal, et à l'examen chimique, je n'y ai trouvé ni albumine, ni syntonine, ni albumose, ni peptones. Toute la substance albuminoïde en avait disparu. Ce liquide renferme de la zymase, car, additionné d'albumine, il y a peptonification à l'étuve en quelques jours.

L'urne qui avait été ainsi vidée pour la seconde fois, reçut alors un mélange de 15 c. c. d'eau distillée et 10 c. c. d'albumine. Cette addition est parfaitement supportée. Après trois jours, il y a encore un peu de syntonine. Le septième jour, j'enlève le liquide dont il ne reste plus que 11.5 c. c. que je réserve pour le dosage d'azote dont je parlerai plus loin.

Je mets derechef le même mélange d'albumine et je laisse une semaine en repos. Au bout de ce temps, il ne reste que 12 c. c. du liquide primitif qui sont aussi mis de côté pour le dosage de l'azote.

Enfin, je verse une troisième fois le même mélange dans l'urne. Elle persiste à rester bien portante, malgré les 32.5 c. c. d'albumine incoagulable qu'elle a digérés, et elle continue à sécréter de l'acide et de la zymase, comme le prouve l'examen chimique du liquide restant.

Des expériences analogues ont été faites, avec un résultat identique, sur deux autres plantes de la même espèce et sur une petite plante d'un *Nepenthes* sp. de Bornéo.

Avec une plante de *N. coccinea*, la digestion ne s'est point produite : l'urne en expérience appartenait à un rameau qui avait été étêté. Elle n'a pas sécrété d'acide, car l'albumine s'est précipitée, ce qui se produit lorsque le liquide devient neutre. La même plante a un autre rameau plus réduit et qui n'a pas été sectionné. Je verse dans cette petite urne assez bien d'albumine. La digestion s'y manifeste et, au bout de quelques jours, j'y constate la présence de peptones.

Dans toutes les urnes où l'albumine finit par disparaître plus ou moins complètement, je ne suis jamais parvenu à obtenir une réaction très nette de peptones, quoique j'aie multiplié ces expériences. Cette absence de peptones ne doit pas surprendre. Elles sont diffusibles, et il est naturel d'admettre qu'elles sont les premières résorbées.

Deux fois seulement, j'ai pu constater la présence évidente de peptones dans les urnes : dans une petite urne de *N. coccinea* appartenant à une plante d'une faible vitalité et qui avait reçu une quantité considérable (relativement) d'albumine, et dans une urne du *Nepenthes* sp. Bornéo, plante normale, digérant rapidement. Mais dans cette urne, l'albumine, pour d'autres recherches, avait été fortement colorée par du bleu de méthylène. La digestion s'était produite partiellement dans cette urne, mais l'absorption, par suite de la présence de la matière colorante et pour une cause non définie, avait été fortement ralentie et les peptones pouvaient se déceler dans l'urne, prouvant ainsi qu'il s'y produit, ou peut s'y produire, une peptonification.

D. *Résorption des produits de la digestion.* — Pour montrer que la plante peut tirer un avantage de la digestion qu'elle provoque dans l'urne, il était nécessaire de s'assurer si l'azote des substances albuminoïdes est bien réellement résorbé et ne reste pas dans le liquide de l'urne sous une autre forme. Le moyen le plus simple de résoudre cette question est de doser l'azote restant dans l'urne, après un certain temps de digestion d'une quantité connue d'albumine. C'est ce que j'ai fait avec les liquides provenant de l'urne du *N. Mastersiana* et dont j'ai parlé plus haut.

Les dosages de l'azote ont été faits par la méthode de Kjeldahl. Par cette méthode, 10 c. c. de mon albumine incoagulable me donnaient une quantité d'ammoniaque équivalente à 14 c. c. d'acide sulfurique titré décinormal. Deux analyses m'ont donné des résultats concordants.

La même quantité d'albumine, après sept jours de digestion dans l'urne et soumise au même traitement, neutralisait seulement 2.8 c. c. de la même liqueur décinormale d'acide sulfurique; et un second essai, analogue au précédent, neutralisait 2.7 c. c. de la liqueur titrée. Ainsi, après une semaine de digestion, la proportion d'azote total tombe de 14 à 2.8 et 2.7, c'est-à-dire qu'il n'en reste donc plus que 20 %. Et encore, dans cet azote restant, faut-il faire entrer en ligne de compte celui de la zymase et celui pouvant provenir de particules chitineuses d'insectes, en suspension dans le liquide.

En tous cas, ces dosages démontrent d'une façon évidente la résorption de l'azote organique.

E. *Étude de la résorption. Examen microchimique.* — Par où se fait cette résorption? Ce sont certainement les glandes qui jouent le rôle actif dans ce phénomène, de même que dans celui de la sécrétion de la zymase et de l'acide; mais il est difficile de mettre ce rôle en évidence. En ce qui concerne la sécrétion, par analogie avec ce qui se passe chez le *Drosera* et le *Drosophyllum*, et par suite aussi de la structure anatomique de l'urne, on ne peut douter que les glandes ne soient le siège de la sécrétion chez les *Nepenthes*, comme elles le sont manifestement chez les deux autres plantes carnivores citées ci-dessus.

Mais sont-elles également le siège de la résorption, ou bien tout le tissu épidermique interne de l'urne, que mouille le liquide, est-il capable d'absorber les produits de la digestion?

L'étude microchimique n'est pas favorable à cette dernière supposition. Si l'on examine au microscope les tissus des urnes avant et après addition d'albumine, on ne constate pas de changements appréciables dans la structure et le contenu des cellules épidermiques. Par contre, des modifications très profondes se manifestent dans les glandes. Toutes les cellules montrent le phénomène si particulier de l'agrégation.

Si l'on place dans de l'eau contenant du bleu de méthylène des fragments d'urne encore vivante, on voit la matière colorante pénétrer rapidement et profondément dans les tissus des glandes, tandis que les cellules épidermiques n'absorbent qu'avec une extrême lenteur le liquide coloré.

D'autre part, en mettant dans l'urne un liquide coloré au bleu de méthylène et qui renferme en même temps de l'albumine, on remarque au bout d'un jour que seules les glandes se sont colorées. Une forte agrégation existe dans les cellules périphériques des glandes : les globules y sont colorés d'une façon intense et paraissent presque noirs. La coloration pénètre aussi les cellules sous-jacentes et elle s'étend même dans les premières couches du parenchyme situé sous les glandes, au voisinage des trachéides qui viennent s'accoler à la base de celles-ci. Dans ces urnes, donc, la matière colorante a uniquement pénétré par les glandes et a pu diffuser dans les tissus sous-jacents. Quant aux cellules épidermiques, elles n'ont pris aucune coloration et aucune trace du liquide de l'urne n'y a pénétré.

Si l'on rend les glandes malades, ou si l'on met en même temps dans l'urne une substance toxique, par exemple du formol, l'aspect microscopique est très différent. Les glandes ne présentent plus d'agrégation; le contenu des cellules est informe et la matière colorante n'a pénétré que dans la couche superficielle de cellules. Dans les couches inférieures, il n'y a pas de coloration, pas plus que dans les cellules épidermiques.

D'après l'examen microscopique, il me semble bien acquis que l'absorption des produits de la digestion est également le résultat de l'activité des glandes. Les produits absorbés sont charriés par les cellules qui accompagnent les éléments trachéens qui partent de la base des glandes et vont se réunir, en plus ou moins grand nombre, aux faisceaux de l'urne.

Dans les urnes bien nourries, les réactions microchimiques des substances albuminoïdes paraissent manifestement plus intenses, surtout au voisinage des glandes et dans les éléments conducteurs. Il semble, d'après cela, que si ces albuminoïdes sont absorbés sous forme de peptones, ils ne séjournent pas comme tels dans les tissus, mais s'emmagasinent plutôt à l'état de matières albuminoïdes vraies.

F. *Nature de la zymase contenue dans l'urne.* — Il n'y a pas de zymase amylolytique dans l'urne des *Nepenthes.* Des urnes auxquelles j'avais ajouté de l'empois d'amidon, n'avaient produit aucune action sur celui-ci au bout de cinq jours. Au microscope, les grains d'amidon gonflés, éclatés, ne montrent aucune altération due à une diastase.

Quant au ferment protéolytique, sa présence est bien manifeste par les produits de son action : d'après l'étude de la digestion, il semble bien qu'elle ne va pas plus loin que la formation de peptones et que ce ferment, qui n'agit qu'en milieu acide, doit être considéré comme une pepsine.

Malgré le peu de liquide d'urnes que j'avais à ma disposition, j'ai pu obtenir, par digestion, une petite quantité de peptones vraies.

Vines [1] dit n'avoir pu réussir à préparer des peptones et admet que le stade ultime de la digestion est une substance du groupe des albumoses. Il faut croire que ses liquides étaient très peu ou pas actifs et qu'il n'a eu affaire qu'à des digestions chlorhydriques.

Néanmoins, à côté de cela, il est porté à admettre qu'il pourrait se former en même temps de la leucine; ce qui devrait faire conclure alors que la zymase des *Nepenthes* ne serait pas une pepsine, mais une trypsine et, chose étonnante, une trypsine active en liquide acide. Mes essais pour tâcher d'obtenir dans mon liquide contenant les peptones, après concentration à l'état sirupeux, une cristallisation de leucine, de tyrosine ou d'acides amidés, n'ont donné aucun résultat même au bout d'un temps très long; et je puis conclure que la zymase des *Nepenthes* forme, comme produit ultime de la protéolyse, des peptones vraies.

---

[1] Dans un récent travail, Vines admet de nouveau la présence d'un zymogène dans les urnes et dit avoir obtenu cette fois une faible quantité de peptone en présence de beaucoup d'albumoses. Il n'indique pas les caractères chimiques de sa peptone. De même, il confirme la présence de leucine sans donner aucun détail sur son identification. Quoique n'ayant trouvé ni tyrosine ni acide amidé, Vines conclut que la zymase du *Nepenthes* est une trypsine agissant en milieu acide Mes recherches m'ont donné des résultats différents : peptonification complète, absence de toute cristallisation de leucine, tyrosine, etc. (Note ajoutée lors de l'impression.)

## CONCLUSIONS.

Il existe, bien certainement, chez les *Nepenthes* une zymase peptonifiante agissant en milieu acide, sorte de pepsine végétale, que l'on peut mettre en évidence par les produits de son action sur les matières albuminoïdes.

Comme chez le *Drosera*, une excitation est nécessaire pour provoquer la sécrétion abondante, non seulement de l'acide sans lequel la peptonification ne pourrait avoir lieu, mais encore du ferment lui-même. Entre ces deux plantes carnivores l'analogie doit être très grande, car chez le *Nepenthes* comme chez le *Drosera*, un mucilage accompagne cette sécrétion. En effet, le liquide d'urnes ayant déjà digéré est beaucoup plus visqueux.

Très fréquemment, après la digestion, le liquide prend une teinte ambrée, qui doit être due à la substance dont nous avons parlé incidemment et qui se colore en rouge par les alcalis. L'origine de cette substance est inconnue. Je ne pense pas, cependant, qu'elle doive être cherchée dans les produits immédiats de la digestion et que l'on puisse la rapprocher de ce chromogène, du tryptophane, qui apparaît dans la digestion trypsique avec les acides amidés. Ceux-ci manquent chez les *Nepenthes*, et je suis plutôt porté à admettre que cette matière colorante pourrait dériver des substances tanniques contenues dans les glandes et qui jouent un grand rôle dans le phénomène de l'agrégation.

Quoique les essais de digestion à l'étuve ne laissent aucun doute sur la présence d'une zymase peptonifiante dans le liquide des urnes excitées, on ne peut mettre son action en évidence dans les urnes saines du *Nepenthes melamphora* observé dans son habitat naturel ; et la disparition de l'albumine se fait si rapidement chez cette plante qui vit à une température à laquelle son liquide d'urne n'a aucune action *in vitro*, qu'il me semble admissible que la peptonification complète des matières protéiques n'est pas indispensable pour qu'elles soient absorbées.

Le fait d'ailleurs n'est pas nouveau ; et si l'on a déjà assimilé la digestion chez le *Nepenthes* à ce qui se passe dans notre estomac, on peut aussi supposer une absorption semblable à celle que fait la muqueuse stomacale qui est capable, admet-on, d'absorber les albuminoïdes des aliments bien avant leur transformation complète en peptones.

Il se peut donc que chez le *N. melamphora* surtout, les glandes absorbent les matières protéiques déjà sous forme d'albumoses, bien que celles-ci ne soient pas directement dialysables. Nous ne comprenons pas comment, dans ces conditions, l'absorption peut se faire ; mais nous ne comprenons pas plus comment se produit chez le *Drosophyllum*, par exemple, la sécrétion du mucilage au travers de l'épaisse cuticule qui recouvre les glandes sécrétrices.

Dès que l'albumine se transforme, elle est rapidement absorbée ; et c'est certainement surtout à cause de cette absorption rapide des matières organiques solubles par l'urne, qu'on ne constate généralement pas de développement microbien dans le liquide. Mais si l'urne est trop remplie d'insectes, une putréfaction se manifeste (comme j'ai pu l'observer à Java) qui est très bien supportée par la plante. Cela peut très bien se comprendre, si l'on songe que la plante est en état d'utiliser l'azote offert sous forme d'ammoniaque ou sous forme d'acides amidés.

L'essentiel est qu'il soit absorbé ; et à ce point de vue, les analyses données plus haut sont démonstratives. L'azote des albuminoïdes disparaît presque totalement du liquide des urnes et, par suite, la digestion doit constituer un certain appoint d'aliment azoté pour la plante, d'autant plus utile que le *Nepenthes* vit le plus souvent en épiphyte et doit donc avoir à sa disposition moins d'aliment azoté que les plantes terrestres. Il serait intéressant de voir si, en même temps que l'azote, le *Nepenthes* ne prend pas aux insectes une partie de leurs éléments minéraux.

# BIBLIOGRAPHIE.

Beccari, Rivista delle speci del genere *Nepenthes*. (*Malesia*, t. III.)

Bokorny, Ueber Aggregation (*Nepenthes phyllamphora*). (*Pringsh. Jahrb.*, t. XX, S. 445.)

Bower, The pitcher of *Nepenthes*. A study in the morphology of the leaf. (*Annals of Botany*, t. III, n° 9, 1891.)

Darwin, Insectivorous plants. London, 1875.

Dickson, On the structure of the pitcher in the seedling of *Nepenthes* as compared with that in the adult plant. (*Proceed. of the roy. Soc. Edinburgh*, 1883.)

Drude, O., Die insektenfressenden Pflanzen. (Schenk, *Handbuch der Botanik*, Bd I, S. 113.)

Dubois, R., Sur le prétendu pouvoir digestif du liquide de l'urne des *Nepenthes*. (*Comptes rendus*, t. CXI, p. 315-317, 1890.)

Errera et Laurent, Planches de physiologie végétale. Texte descriptif français. Bruxelles, Lamertin, 1897.

Faivre, Recherches sur la structure, le mode de formation et sur quelques points relatifs aux fonctions des urnes chez le *Nepenthes distillatoria*. (*Mém. de l'Acad. des sc. de Lyon*, t. XXII.)

Goebel, Pflanzenbiologische Schilderungen, t. II, S. 186, 1893.

Gorup-Besanez, Fortgesetzte Beobachtungen über peptonbildende Fermente im Pflanzenreiche. (*Sitzber. d. phys. medic. Societät zu Erlangen*, 1876.)

Haberlandt, Eine botanische Tropenreise, S. 227. Leipzig, 1893.

Hooker, On the origin and development of the pitcher of *Nepenthes* with an account of some new Bornean plants of the genus. (*Trans. of the Linn. Soc.*, t. XXII.)

Idem, Carnivorous plants. (*Address Brit. Associat.* Belfast, 1874; reproduite dans *Nature*, t. X, p. 366.)

Korthals, *Nepenthes*. Verhandelingen over de natuurlijke geschiedenis der nederlandsche overzeesche Bezitting. Leiden, 1839-1842.

Lawson-Tait, Insectivorous plants. (*Nature*, t. XII, p. 251, 1875.)

Macfarlane, Pitchered insectivorous plants. (*Pharmaceutical Journal*, t. XVI, 1885-1886.)

Massart, Un botaniste en Malaisie. (*Bull. de la Soc. roy. de botanique de Belgique*, t. XXXIV, p. 253, 1895.)

Mohnike, Blicke auf das Pflanzen- und Thierleben in den *Niederländischen Malaienländern,* S. 148, 1883.

Morren, Ed., La théorie des plantes carnivores et irritables, 2de édition, 1876.

Oudemans, De Bekerplanten.

Pfeffer, Ueber fleischfressende Pflanzen und die Ernährung durch Aufnahme organischer Stoffe überhaupt. (*Landwirthsch. Jahrbücher,* 1877.)

Idem, Pflanzenphysiologie. Zweite Auflage. Leipzig, 1897.

Sachs, Vorlesungen über Pflanzenphysiologie, S. 457, 1882.

Tischutkin, Ueber die Rolle der Mikroorganismen bei der Ernährung der insectfressenden Pflanzen. (*Arb. d. St Petersburger Naturf. Gesellsch.,* 1891. Referat im *Botan. Centralblatt,* t. L, S. 304, 1892.)

Vines, On the digestive ferment of *Nepenthes.* (*Journ. of Anatomy and Physiology,* t. XI, 1876.)

Idem, The proteolytic enzyme of *Nepenthes,* I. (*Annals of Botany,* t. XI, p. 565, december 1897.)

Idem, The proteolytic enzyme of *Nepenthes,* II. (*Annals of Botany,* t. XII, p. 547, december 1898.)

Voelcker, Composition du liquide des urnes de *Nepenthes.* (*Ann. and Mag. of nat. History,* t. IV, p. 128, 1849.)

Wallace, *Malay Archipelago,* t. I, p. 49.

Wunschmann, Die Gattung *Nepenthes.* (Diss., Berlin, 1872.)

# RECHERCHES MICROCHIMIQUES

SUR

# LA PRÉSENCE DES ALCALOÏDES ET DES GLYCOSIDES

DANS LA

# FAMILLE DES RENONCULACÉES

PAR

**E. VANDERLINDEN**

Docteur en sciences naturelles (1).

## INTRODUCTION.

La famille des Renonculacées a toujours joui d'une certaine célébrité au point de vue de sa richesse en plantes vénéneuses ou officinales. Dès la plus haute antiquité, plusieurs d'entre elles étaient connues comme toxiques, tandis qu'on attribuait à d'autres des propriétés curatives aussi extraordinaires que chimériques. Ces propriétés merveilleuses étaient déjà, à ces époques reculées, considérées comme dérivant de sucs spéciaux renfermés dans ces végétaux. Faut-il citer les divers *Helleborus* employés au temps des Grecs pour la guérison de la folie? Quant à *Pœonia officinalis,* il entrait dans toutes les recettes des sorciers du moyen âge. Les *Anemone,* les *Clematis* et d'autres ont eu aussi leur heure de célébrité.

---

(1) Ce Mémoire a été envoyé en réponse à une question du concours universitaire, en 1899 (Groupe botanique). Il paraît simultanément ici et dans les ANNALES DE LA SOCIÉTÉ ROYALE DES SCIENCES MÉDICALES ET NATURELLES DE BRUXELLES, t. X, 1901.

Les progrès réalisés dans le domaine de la chimie et de la pharmacologie ont réduit à leur juste valeur la plupart de ces qualités admirables, que beaucoup de plantes ne devaient, en réalité, qu'à l'imagination féconde des médecins et des alchimistes de jadis.

Il ne faut cependant pas en induire que la haute estime où l'on tenait certaines Renonculacées fût absolument gratuite. Ce qui le prouve amplement, c'est que la liste de ces plantes employées dans la thérapeutique moderne est encore très longue. Beaucoup servent encore aux mêmes usages qu'il y a quelques siècles. Ainsi les *Helleborus* sont encore employés comme purgatifs et les divers *Aconitum* fournissent l'aconitine, substance très précieuse en médecine.

Ces quelques considérations montrent suffisamment que la famille des Renonculacées a toujours été considérée comme riche en plantes à substances douées de propriétés chimiques particulières. Cette circonstance explique pourquoi les chimistes ont, depuis de longues années, pris diverses Renonculacées comme objet de leurs investigations.

L'idée générale qui se dégage de ces recherches est que les Renonculacées vénéneuses ou médicinales doivent ces propriétés à deux grandes classes de corps, savoir : les alcaloïdes et les glycosides. De ces deux groupes, le premier est bien défini et composé de corps à réactions spéciales bien caractéristiques. Quant aux glycosides, quoique bien connus en tant qu'espèces chimiques, on ne possède point pour eux de réactions générales bien caractéristiques.

Les premières analyses chimiques se rapportant aux Renonculacées remontent au commencement du XIX$^{e}$ siècle. En 1819, Brandes, Lassaigne et Feneulle parvinrent à extraire des graines de *Delphinium Staphisagria*, une substance toxique, à propriétés basiques, qu'ils nommèrent la delphinine. L'année suivante (1820), Peschier étudia les Aconits et retira du Napel un produit qu'il baptisa du nom d'acide aconitique. La nature de cette substance fut ensuite l'objet de longues et nombreuses discussions, et de nos jours, on n'est pas encore complètement d'accord sur la composition chimique des produits vénéneux élaborés par les Aconits. A mesure qu'on se rapproche de notre époque, les recherches chimiques sur les Renonculacées se multiplient dans des proportions considérables. Il serait impossible, et du reste inutile, de citer tous les travaux parus sur ce sujet, tant leur nombre est grand. Malgré cela, cette famille constitue encore pour le chimiste un vaste champ à explorer, car elle n'est que très imparfaitement connue.

Les analyses chimiques des plantes sont, sans aucun doute, très importantes pour le chimiste et le médecin. Pour le naturaliste, elles ne présentent comme telles qu'un intérêt secondaire. Il est certainement intéressant, pour le botaniste, de savoir que l'Aconit Napel contient un alcaloïde très vénéneux, que l'*Helleborus niger* renferme un glycoside, mais ce qui l'intéressera bien davantage, ce sera de savoir dans quels tissus, dans quelles parties de la plante se trouvent ces substances et les transformations qu'elles y subissent. Au moyen de ces données, il lui sera possible d'en déceler l'origine et de trouver le rôle qu'elles jouent dans l'économie de la plante. A ce point de vue, plutôt théorique que pratique, les nombreux travaux et analyses des chimistes n'ont guère rendu de services.

Les botanistes s'efforcent de combler cette lacune. Ils ont entrepris à leur point de vue propre l'étude des composés renfermés dans les végétaux, en cherchant par des procédés microchimiques dans quels tissus ou organes ils se trouvent. Leurs recherches ont permis d'étudier la localisation de différentes substances : telles l'amidon, les sucres, les matières protéiques, les tannins, le soufre ; plus récemment, le glycogène, les alcaloïdes, quelques glycosides, l'acide prussique, etc.

Par ces travaux, on a été conduit à admettre, pour ce qui concerne les alcaloïdes, que ces substances sont des déchets provenant des matières albuminoïdes et dont le végétal peut se servir pour se défendre contre les attaques des herbivores.

Mais plusieurs points restent encore à étudier avant qu'on puisse formuler une théorie complète sur le rôle et la signification des alcaloïdes. Il importe, en effet, plus qu'on ne l'a fait jusqu'ici, de tenir compte des différentes phases de la végétation des plantes, de la nature et de la composition chimique du sol qui les a produites, des conditions climatériques dans lesquelles elles se sont développées. Ces facteurs doivent exercer une certaine influence sur la composition chimique de la plante, tout comme ils agissent sur sa structure histologique. Les quelques recherches que j'ai faites dans cette voie viennent à l'appui de cette thèse, soutenue du reste par différents auteurs (Johanson, Jorissen, etc.).

Les Renonculacées n'ont été soumises à aucune recherche de microchimie, à part l'Aconit Napel et la graine de *Delphinium Staphisagria,* où la localisation de l'alcaloïde a été étudiée par Clautriau, et le *Caltha palustris* sur lequel Molle a fourni quelques indications. C'est un fait assez étrange à constater, quand on considère le nombre considérable de recherches macrochimiques faites sur ces plantes.

Je me suis proposé d'apporter une modeste part de travail à la solution de cette question. L'étude que j'ai entreprise s'est appliquée à un certain nombre de Renonculacées, choisies dans les diverses tribus de la famille. J'ai eu en vue de localiser dans ces plantes les alcaloïdes et les glycosides. Pour opérer la localisation des alcaloïdes, je me suis servi de la méthode employée avec succès par Errera et, dans la suite, par différents autres auteurs.

Comme elle a été expliquée en détail dans plusieurs travaux parus antérieurement, je m'abstiendrai de revenir sur ce point, me bornant à renvoyer le lecteur à ces mémoires (1).

---

(1) Voir à ce sujet : Errera, Maistriau et Clautriau, *Premières*

Cette méthode de localisation, comme il a été démontré, est d'une précision remarquable quand il s'agit de constater la présence d'alcaloïdes dans les tissus végétaux.

La localisation des glycosides est une question moins étudiée. La pénurie de travaux de microchimie ayant trait à ces composés doit être attribuée à plusieurs causes. Il est à remarquer en premier lieu qu'on est encore très ignorant quant aux propriétés et à la composition chimique de beaucoup de ces corps. Ils ne possèdent pas, comme les alcaloïdes, des réactions générales et typiques qui permettent d'en constater aisément la présence dans les tissus végétaux. Le seul caractère qui leur soit propre est que, par l'action des acides ou de certaines zymases, ils se dédoublent en sucre et en d'autres substances appartenant généralement à la série aromatique. C'est une propriété remarquable, qu'on peut mettre à profit dans les recherches macrochimiques, mais en microchimie, elle n'a qu'une importance secondaire. Beaucoup d'auteurs prétendent, il est vrai, qu'avec l'acide sulfurique concentré, les glycosides donnent une coloration rouge, même dans les cellules. On verra dans la suite que cette assertion n'est pas très fondée.

Un facteur qui coopère aussi à rendre difficile la localisation des glycosides, c'est que, plus encore que pour les alcaloïdes, leur présence dans la plante est soumise à des fluctuations considérables. De nombreux exemples le prouvent. Ainsi, la syringine glycoside du *Syringa vulgaris* se

---

*recherches sur la localisation et la signification des alcaloïdes dans les plantes.* (JOURN. DE LA SOC. ROY. DES SC. MÉD. ET NAT. DE BRUXELLES, 1887, ou RECUEIL DE L'INSTITUT BOTANIQUE DE BRUXELLES, t. II.) — PH. MOLLE, *Recherches de microchimie comparée sur la localisation des alcaloïdes dans les Solanacées.* (MÉM. COUR., etc., in-8°, ACAD. ROY. DES SCIENCES DE BELGIQUE, 1896, t. LIII, ou RECUEIL DE L'INSTITUT BOTANIQUE DE BRUXELLES, t. II.) — ERRERA, *Sur la distinction microchimique des alcaloïdes et des matières protéiques.* (ANN. DE LA SOC. BELGE DE MICROSCOPIE, t. XIII, 2ᵉ fasc., 1889, ou RECUEIL DE L'INSTITUT BOTANIQUE DE BRUXELLES, t. II.)

trouve dans l'écorce de cet arbuste au printemps, et elle disparaît pendant la période de végétation pour faire place à un principe amer : la syringopicrine (1). L'hespéridine, glycoside du genre *Citrus*, existe dans les fruits non mûrs de cet arbre en quantités considérables, et diminue à mesure qu'ils mûrissent (2).

Ces variations s'expliqueraient si l'on admettait que les glycosides jouent dans la physiologie de la plante le rôle de réserves de sucre. A mesure que la plante a besoin de sucre, elle pourrait dédoubler une partie de ses glycosides. Il résulterait de cela qu'à une époque donnée, une plante peut être riche en glycosides, alors que quelques mois ou quelques jours après, elle n'en contiendra pas ou très peu. Cette circonstance complique donc singulièrement la recherche microchimique de ces substances. Quant aux alcaloïdes, on a pu s'assurer, dans plusieurs cas, qu'une fois formés ils ne sont plus utilisés par la plante comme aliments. J'aurai l'occasion d'en fournir un nouvel exemple à propos de *Caltha palustris*.

Les facteurs précités font que, dans la recherche microchimique des glycosides, on a dû procéder par tâtonnements. Malgré cela, on est parvenu à localiser plus ou moins nettement certains d'entre eux. Il faut mentionner : la coniférine indiquée par von Höhnel (3) et Singer (4) dans les tissus lignifiés; la syringine dans *Syringa vulgaris* par Borscow (5);

---

(1) KROMAYER, cité dans HUSEMANN et HILGER, *Die Pflanzenstoffe*, 2 Ausg., Bd II, 1884, S. 1273.

(2) PFEFFER, *Bot. Zeit.*, 1874, S. 529.

(3) *Histochemische Untersuchungen über das Xylophilin und das Coniferin.* (SITZB. D. K. AKAD. D. WISSENSCH. ZU WIEN, Bd LXXVI, Abth. I, Jahrg. 1877, S. 42.)

(4) *Beiträge zur näheren Kenntniss der Holzsubstanz.* (ARB. DES PFLANZEN-PHYSIOL. INSTITUTES DER K. K. WIENER UNIVERSITÄT, XXII.)

(5) BORSCOW, *Beitr. z. Histochemie der Pflanzen.* (BOT. ZEIT., 1874, S. 36.)

l'hespéridine dans les citrons par Pfeffer (1); la solanine par Theorin, Schaarschmidt, Wothtschall et Ph. Molle (2); la saponine dans les Silénées, les Polygalacées et les Sapindacées par Rosoll (3). Ottomar Hermann étudia (4) la localisation de la datiscine dans *Datisca cannabina*; de la phlorizine dans les racines de *Pyrus*; de la rutine dans *Ruta graveolens*, de la plumbagine dans *Plumbago europea*.

Une observation qui peut avoir son utilité pour l'explication du rôle physiologique des glycosides a été faite par Marshall Ward et Dunlop (5). Ces auteurs ont trouvé un glycoside, la xanthoramnine, dans l'enveloppe de la graine de *Rhamnus infectoria*. Or, ils ont constaté que le funicule de cette même graine renferme un ferment soluble, capable de dédoubler la xanthoramnine en glycose et en un corps jaune cristallin. L'existence de cette zymase dans le voisinage du glycoside permet de supposer que ce dernier est destiné à être dédoublé ultérieurement. Guignard a fait, pour l'amygdaline et l'émulsine d'une part, pour le myronate de potassium et la myrosine de l'autre, des constatations analogues.

Il résulte de l'ensemble de ce qui précède, qu'il serait téméraire d'affirmer qu'une plante ne contient ni alcaloïde ni glycoside, parce que les réactifs n'y ont pas montré l'existence de ces corps. Il est plus prudent et plus juste de dire qu'à une telle époque de l'année, la plante était dépourvue d'alcaloïdes ou de glycosides.

---

(1) PFEFFER, *loc. cit.* — Voir aussi MIKA, *Beitr. z. Morphol. und mikrosk-Nachweisung des Hesperidins*, en hongrois (résumé dans JUST, 1878, Bd I, S. 20).

(2) THEORIN, *Några Växtmikrokemiska anteckningar*. (ÖFVERSIGT AF K. VETENSK. AKAD. FÖRHANDLINGAR, Stockholm, 1885, n° 5.) — SCHAARSCHMIDT, *Zeitschr. f. wiss. Mikrosk.*, Bd I, 1884, S. 61; WOTHTSCHALL, *ibid.*, Bd V, 1888, S. 20; MOLLE, *loc. cit.*

(3) *Ueber den direkten Nachweis des Saponins im Gewebe der Pflanzen*. (SITZB. D. K. AKAD. DER WISSENSCH. ZU WIEN, Bd LXXXIX, Abth. I, 1884, S. 143.)

(4) OTTOMAR HERMANN, *Inaug. Dissertat.*, Leipzig, 1876.

(5) *On some points in the histology and physiology of the fruits and seeds of Rhamnus*. (ANNALS OF BOTANY, vol. I, 1887-1888, p. 1.)

Avant de passer à l'exposé de mes recherches, je crois intéressant de donner la liste des alcaloïdes et des glycosides fournis jusqu'à ce jour par la famille des Renonculacées.

### A. — *Alcaloïdes des Renonculacées.*

| Noms.<br>— | Plante qui a fourni la substance.<br>— |
|---|---|
| Acolyctine . . . . . | *Aconitum Lycoctonum.* |
| Aconine . . . . . . . | — *Napellus, Ac. cammarum* |
| Aconitine . . . . . . | — *Napellus.* |
| Atisine . . . . . . . | *Aconitum heterophyllum.* |
| Berbérine . . . . . . | *Hydrastis canadensis; Xanthorrhiza; Coptis; Thalictrum.* |
| Calcatrippine . . . | *Delphinium Consolida.* |
| Canadine . . . . . . | *Hydrastis canadensis.* |
| Cimicifugine . . . | *Cimicifuga racemosa.* |
| Connigelline . . . | *Nigella sativa.* |
| Coptine . . . . . . . | *Coptis trifolia.* |
| Damascénine . . . . | *Nigella damascena.* |
| Delphinine . . . . . | *Delphinium Staphisagria.* |
| Delphinoïdine . . . . | — — |
| Delphisine . . . . . . | — — |
| Hydrastine . . . . . . | *Hydrastis canadensis.* |
| Isopyrine . . . . . . | *Isopyrum thalictroides.* |
| Japaconitine . . . . | *Aconitum japonicum.* |
| Lycoctonine . . . . | — *Lycoctonum.* |
| Méconine . . . . . . | *Hydrastis canadensis.* |
| Myoctonine . . . . . | *Aconitum Lycoctonum.* |
| Napelline . . . . . . | — *Napellus.* |
| Nicotine? . . . . . . | *Caltha palustris.* |
| Nigelline . . . . . . | *Nigella sativa.* |
| Péonine . . . . . . . | *Pæonia peregrina* et *P. corallina.* |
| Pérégrinine . . . . . | *Pæonia peregrina.* |
| Pseudaconitine . . . | *Aconitum Napellus.* |
| Staphisagrine . . . . | *Delphinium Staphisagria.* |
| Thalictrine . . . . . | *Thalictrum macrocarpum.* |

### B. — *Glycosides des Renonculacées.*

| | |
|---|---|
| Adonidine . . . . . . | *Adonis vernalis.* |
| Adonine. . . . . . . | — *amurensis.* |
| Helléboréine. . . . . | Les divers *Helleborus.* |
| Helléborine . . . . . | — — |
| Mélanthine. . . . . . | *Nigella sativa.* |

En outre, on vient encore d'extraire d'un *Delphinium* des Indes, le *D. Zalil*, deux glycosides nouveaux (1).

L'inspection de cette liste montre le nombre respectable d'alcaloïdes et de glycosides extraits des Renonculacées. La série augmentera encore dans la suite. Il est cependant probable que beaucoup de ces alcaloïdes n'existent que de nom. Il en est notamment ainsi pour la multitude d'alcaloïdes extraits des divers Aconits. Il se peut qu'on ait donné plusieurs noms différents à la même substance ou à des mélanges de corps déjà étudiés.

Mes recherches ont porté sur un assez grand nombre de plantes. Pourtant j'ai été loin de trouver un alcaloïde ou un glycoside dans toutes. Beaucoup de Renonculacées à propriétés toxiques bien connues n'ont paru contenir ni alcaloïde ni glycoside. Il en est ainsi pour les *Ranunculus* et les *Clematis*.

Dans le tableau suivant, je renseigne les diverses espèces étudiées :

---

(1) Perkin et Pelgrim, *Sur la matière colorante du Delphinium Zalil.* (Proc. chem. Society, 1897-1898, n° 190, pp. 55-56.)

1. *Aconitum Anthora* L.
2. — *Lycoctonum* L.
3. *Actæa spicata* L.
4. *Adonis æstivalis* L.
5. — *vernalis* L.
6. *Aquilegia vulgaris* L.
7. *Anemone japonica* Sieb. et Zucc.
8. — *nemorosa* L.
9. — *pratensis* L.
10. — *Pulsatilla* L.
11. *Caltha palustris* L.
12. *Cimicifuga americana* Michx.
13. — *fœtida* L.
14. *Clematis* spec.
15. — *stans* Sieb. et Zucc.
16. — *Vitalba* L.
17. *Delphinium Ajacis* L.
18. — *Consolida* L.
19. — *hybridum* Steph. et Willd.
20. *Delphinium Staphisagria* L.
21. — *grandiflorum* L.
22. *Eranthis hiemalis* Salisb.
23. *Ficaria ranunculoides* Moench.
24. — *calthæfolia* Reich.
25. *Helleborus niger* L.
26. *Nigella damascena* L.
27. — *sativa* L.
28. — *vernalis* Hort.
29. *Pæonia mollis* Anders.
30. — *Moutan* Sims.
31. — *officinalis* Retz.
32. *Ranunculus acris* L.
33. — *bulbosus* L.
34. — *Lingua* L.
35. — *muricatus* L.
36. — *sceleratus* L.
37. — *repens* L.
38. *Thalictrum adiantifolium* Bess.
39. — *anemonoides* Michx.

Il eût été intéressant d'étudier certains autres types reconnus comme toxiques, tels que *Hydrastis canadensis*, *Isopyrum*, mais il m'a été impossible de me les procurer.

## § I. — CALTHA PALUSTRIS.

### *Renseignements anatomiques sur cette plante.*

RACINE : Vue sur une coupe transversale, la racine de *Caltha palustris* présente la structure suivante : A la périphérie, on trouve une ou deux assises de cellules en partie désorganisées, a parois subérisées et colorées en brun. Cette couche fait fonction d'un exoderme protecteur. Sous cette couche externe est un parenchyme très développé, pouvant contenir jusqu'à vingt assises de grandes cellules. Ce parenchyme est bourré d'amidon. (La figure 1 montre en coupe longitudinale l'assise externe et une partie du parenchyme.) Après ce parenchyme, on rencontre successivement l'endoderme, le péricycle et la stèle comprenant ordinairement quatre ou cinq faisceaux ligneux et autant de libériens (fig. 2). Les faisceaux ligneux sont formés de vaisseaux spiralés, réticulés et annelés. Le liber se compose de cellules très petites et allongées (fig. 3). Les tubes criblés et leurs cellules compagnes sont étroitement unis et constituent un tissu assez compact. Le centre de la racine est occupé par un parenchyme médullaire très développé. Le cambium est difficilement visible.

Le point végétatif de la racine n'a pas présenté de particularités histologiques importantes.

La plupart des racines m'ont paru n'être qu'annuelles. En hiver, elles sont remplies d'amidon, qu'elles perdent au printemps, quand la plante forme ses premiers organes aériens. Par le fait même, beaucoup d'entre elles deviennent fistuleuses et se désorganisent. A la même époque, il se produit une nouvelle génération de racines à croissance très rapide.

TIGE : A l'état jeune, la tige est pleine, sa partie centrale étant occupée par une moelle très lacuneuse qui disparaît presque complètement dans la suite. Dans la tige adulte, on trouve en général une douzaine de faisceaux libéroligneux principaux, disposés en cercle. Entre ces grands faisceaux viennent se placer les faisceaux foliaires plus petits. Tous ces éléments, vus en coupe transversale, affectent la forme en V propre aux Renonculacées (1). Ils finissent généralement par se fusionner. Chaque faisceau est entouré d'une gaine amylifère, tandis que cet hydrate de carbone est très rare dans les autres parties de la tige. Le cambium est peu caractérisé. Le parenchyme cortical est très lacuneux et formé de grandes cellules. Il devient de plus en plus dense à mesure qu'on se rapproche de la périphérie de l'organe.

---

(1) SOLEREDER, *Systematische Anatomie der Dicotyledonen,* I. Lief., S. 18.

La figure 4 montre l'aspect des cellules épidermiques de la tige; la figure 5 représente une coupe longitudinale de la tige, passant par un faisceau libéro-ligneux.

Feuille : Le limbe est cordiforme, légèrement denté. Dans le pétiole, on trouve six faisceaux. Ces faisceaux sont de deux ordres, des grands et des petits, et très éloignés les uns des autres. Le pétiole est pourvu d'une moelle lacuneuse qui disparaît partiellement au bout de quelque temps.

Les deux épidermes du limbe portent des stomates (fig. 6). Le mésophylle est lacuneux.

Fleur : La feuille carpellaire a conservé la majeure partie des caractères de la feuille ordinaire. A l'état jeune, elle est verte. Sur sa face externe, elle est pourvue de nombreux stomates. Son tissu est parcouru par des nervures anastomosées, se détachant à angle droit de la nervure dorsale.

Le calice et les étamines renferment une matière colorante jaune, appartenant à la classe des lipochromes.

### *Étude de l'alcaloïde de* Caltha palustris.

Les propriétés toxiques de cette Renonculacée sont connues depuis une époque assez éloignée. L'existence de son alcaloïde fut mise en évidence pour la première fois par Johanson (1). Cet auteur a, par distillation, extrait des organes aériens de *Caltha palustris* une substance à propriétés alcaloïdiques qui, d'après lui, présente tous les caractères chimiques et produit tous les effets toxiques de la nicotine. Malheureusement, le travail est très bref sur les réactions chimiques de la substance extraite. Disons qu'en Finlande, cette plante est appelée vulgairement « Tabac des Grenouilles ».

---

(1) *Chemische Untersuchungen der Caltha palustris.* (Sitzb. der Naturf. Ges. zu Dorpat, Bd IV, 1878.)

Ph. Molle (1) signale à son tour l'alcaloïde de *Caltha palustris.*

### *Caractères microchimiques de l'alcaloïde de* Caltha palustris.

Cet alcaloïde présente les réactions suivantes dans les cellules :

Avec l'iodure de potassium iodé, il donne un précipité brun-kermès granuleux ; avec l'iodure double de potassium et de mercure, précipité jaune sale ; avec l'acide picrique, précipité jaune ; avec le perchlorure de fer, précipité grisâtre ; avec l'acide sulfurique concentré, faible coloration rosée, très fugace.

Le réactif de Mandelin, le chlorure de platine, l'acide phosphomolybdique, le tannin, l'acide sulfurique associé à l'acide nitrique ne le précipitent pas.

Une réaction assez nette s'obtient avec le chlorure d'or. Ce réactif précipite l'alcaloïde de *Caltha* en jaune gris. J'ai essayé aussi la méthode indiquée par Strasburger pour conserver les préparations des cristalloïdes protéiques précipités par le chlorure d'or (2). Voici la manière d'opérer : Les coupes, après avoir été passées à l'eau distillée, sont mises dans une solution faible de chlorure d'or. On les place ainsi pendant une heure et demie à l'obscurité. Ensuite, on les retire de la solution, on les lave et on les expose à la lumière dans une solution à 5 °/₀ d'acide formique pendant environ deux heures. Le sel d'or est réduit, et le précipité d'alcaloïde, primitivement grisâtre, est maintenant d'un noir bleuâtre. On monte alors les coupes dans la glycérine et on les ferme au baume de Canada. Ce procédé est très bon quand on opère avec de grandes cellules à contour bien défini. Pour les tissus denses, tels que les libers, la coloration est diffuse, et il n'est plus possible de bien distinguer les cellules alcaloïdifères.

---

(1) PH. MOLLE, *Recherches de microchimie comparée sur la localisation des alcaloïdes dans les Solanacées.* (MÉM. COUR. ET DES SAV. ÉTRANG. DE L'ACAD. ROY. BELG., in-8°, t. LIII, 1895, p. 17, ou RECUEIL DE L'INSTITUT BOTANIQUE DE BRUXELLES, t. II.)

(2) STRASBURGER, *Das bot. Practicum,* 3. Ausg., 1897, S. 99.

### *Localisation de l'alcaloïde de* Caltha palustris.

Racine : Sur une coupe longitudinale du point végétatif de la racine, on constate l'absence d'alcaloïde dans la coiffe et dans le point végétatif proprement dit (1). Un peu en arrière du point végétatif, l'alcaloïde se montre dans certaines cellules placées en rangées des deux côtés de l'axe. A mesure que les tissus se différencient, l'alcaloïde devient plus abondant (fig. 2) : il occupe le parenchyme cortical, l'endoderme, le péricycle, le liber et le parenchyme central.

C'est dans la racine adulte que l'alcaloïde est le plus abondant. On le trouve d'abord sous les cellules externes désorganisées (fig. 1). A cet endroit, l'alcaloïde atteint son maximum d'abondance. Il s'y trouve en quantité considérable dans deux assises de cellules, où les réactifs produisent toujours un précipité très intense. Cette localisation est caractéristique pour toutes les racines, en hiver du moins. En pénétrant plus loin dans la racine, on constate aussi la présence d'alcaloïde dans le parenchyme, où on le rencontre en compagnie de l'amidon (fig. 1). La quantité d'alcaloïde augmente ensuite de plus en plus à mesure qu'on se rapproche de la stèle. Dans celle-ci, il existe surtout dans les cellules compagnes des tubes criblés (fig. 3). J'ai même obtenu quelques faibles réactions dans les tubes criblés au voisinage des cribles. L'alcaloïde existe dans l'endoderme et le péricycle. Les poils radicaux et le bois n'en renferment pas. La moelle de la racine est aussi très riche en alcaloïde.

---

(1) D'après des renseignements que je dois à l'obligeance de M. Molle, il aurait cependant constaté l'existence de l'alcaloïde dans la coiffe.

TIGE : Ici l'alcaloïde existe dans l'épiderme (fig. 4), le liber et dans la partie de la moelle qui touche les faisceaux. Dans le liber, il occupe surtout les cellules compagnes des tubes criblés (fig. 5). Dans le point végétatif proprement dit, on ne constate pas la présence d'alcaloïde, mais dès que les tissus se différencient en éléments libéro-ligneux, l'alcaloïde apparaît autour des jeunes faisceaux et y est très abondant.

FEUILLE : Dans le pétiole, la distribution de l'alcaloïde est comme dans la tige. Dans le limbe, j'ai trouvé l'alcaloïde dans l'épiderme supérieur et autour des nervures. Les cellules stomatiques n'en renferment pas (fig. 6).

FLEUR : Le pédoncule contient l'alcaloïde dans la partie libérienne de ses faisceaux. Le calice en présente autour des nervures des sépales. La réaction y est peu nette et démontre une faible teneur alcaloïdique. Dans les étamines, l'alcaloïde entoure le faisceau du filet. Je n'en ai pas observé dans les anthères. Le carpelle renferme l'alcaloïde dans son épiderme interne et dans les faisceaux. Dans les ovules, on obtient une faible réaction dans le tégument externe (fig. 7). L'albumen n'en contient pas. La graine mûre contient peu d'alcaloïde : on l'y observe dans l'enveloppe de la graine.

Avant de terminer ce qui est relatif à *Caltha,* il convient de mentionner quelques observations que j'ai faites sur les fluctuations auxquelles l'alcaloïde est soumis dans les tissus de cette plante. J'ai cru devoir insister sur les deux couches de cellules situées sous l'exoderme de la racine à cause de leur richesse particulière en alcaloïde. Mes premières recherches sur la racine de *Caltha* avaient été faites au milieu de l'hiver, et toujours j'avais constaté un abondant précipité d'alcaloïde dans ces cellules.

Ayant refait les mêmes expériences au mois de juillet, j'ai remarqué qu'à cette époque de l'année ce tissu ne renferme pas d'alcaloïde. A la fin du mois d'août, la base végétale commençait à y apparaître. En été, l'alcaloïde est aussi très rare dans le parenchyme de la racine. Il est à remarquer que c'est vers le mois d'août que *Caltha palustris* perd la plupart de ses organes aériens. L'apparition de l'alcaloïde dans les racines coïnciderait donc avec l'entrée de la plante dans la période de vie latente. Je ne tirerai pas beaucoup de déductions de cette observation, mais il est à remarquer que pendant la période de repos, les racines de *Caltha* servent de réservoirs à amidon. C'est donc pendant cette période que la plante devra défendre le plus ce trésor alimentaire, amassé pendant l'été, contre les nombreux animaux qui hivernent sous terre, puisque pour ces derniers la disette règne assez souvent à cette époque de l'année. Un deuxième fait que j'ai observé est qu'au printemps, l'alcaloïde reste dans la racine alors que l'amidon la quitte. L'alcaloïde n'est donc pas utilisé par la plante.

Dans les recherches précédentes comme dans toutes les suivantes, l' « alcool tartrique » (procédé Stas) m'a servi à m'assurer que je me trouvais bien en présence d'alcaloïdes (1).

## § II. — Genre DELPHINIUM.

Mes recherches ont porté sur cinq espèces de *Delphinium*, savoir : *D. hybridum*, *Staphisagria*, *grandiflorum*, *Ajacis* et *Consolida*.

Après l'étude anatomique faite par Lenfant (2) sur *D. Ajacis*,

---

(1) Voir à ce sujet Errera, *Sur la distinction microchimique des alcaloïdes et des matières protéiques* (loc. cit.).

(2) Lenfant, *Contribution à l'anatomie des Renonculacées (le genre* Delphinium). (Mém. de la Soc. royale des Sc. de Liége, t. XIX.) — Il est à regretter que l'auteur n'ait pas fait entrer l'étude des racines dans le cadre de ses recherches.

*Consolida*, *Staphisagria* et *elatum*, je crois qu'il serait superflu de donner encore beaucoup de détails anatomiques sur ces plantes, d'autant plus que les divers *Delphinium* que j'ai étudiés présentent entre eux beaucoup de caractères histologiques communs, tels le développement rapide du cylindre ligneux de la racine, la présence d'îlots de sclérenchyme en face des faisceaux libériens de la tige. Je me bornerai donc à ne donner sur les divers *Delphinium* étudiés que les renseignements anatomiques nécessaires à la compréhension de mes recherches microchimiques.

### *Delphinium hybridum.*

Anatomie. — Racine : Le point végétatif de la racine ne présente pas de particularités spéciales. Qu'il me suffise de dire que la coiffe est très développée.

Dans la racine en voie de formation, on trouve un parenchyme très étendu, recouvert d'un exoderme ordinairement subérifié. Ce parenchyme est formé de grandes cellules. Viennent ensuite l'endoderme et le péricycle. La stèle comprend deux ou trois faisceaux ligneux et autant de libériens. Au centre, on observe du tissu médullaire. Dans les racines plus âgées, on trouve en outre du cambium. Par la croissance secondaire, les éléments ligneux prennent un développement considérable. Le parenchyme médullaire finit à son tour par se lignifier. Il en résulte que dans les racines âgées on trouve un cylindre ligneux très développé, se composant en majeure partie de vaisseaux spiralés et ponctués.

Tige : La tige est annuelle, tandis que les racines sont vivaces. Si l'on fait une coupe longitudinale à travers le point végétatif de la tige, on y trouve deux sortes de mamelons. Les uns, arrondis et obtus, donneront naissance aux fleurs ; les autres produiront les bractées.

Tous ces tissus méristématiques sont formés de cellules à peu près cubiques et étroitement serrées les unes contre les autres. Au centre est un parenchyme médullaire moins dense.

La tige adulte se présente sous la forme d'un cylindre creux, par suite de la disparition de la moelle. Sur le pourtour de ce cylindre s'alignent les faisceaux en nombre variable. Les faisceaux foliaires sont plus petits que les faisceaux caulinaires, mais ces divers éléments s'embranchent naturellement les uns sur les autres. Le xylème comprend surtout des vaisseaux ponctués et quelques vaisseaux spiralés. Le cambium est formé de cellules aplaties et très petites. Contre le liber de chaque faisceau, on trouve un arc de tissu sclérenchymateux à parois très épaisses et formé de longues fibres à cloisons clairsemées. Ces arcs finissent par se fusionner.

### *Caractères chimiques que présente dans les cellules l'alcaloïde de* Delphinium hybridum.

L'iodure de potassium iodé le précipite en brun-kermès; le précipité est d'abord rougeâtre. L'acide picrique et le chlorure d'or le précipitent en jaune.

L'iodure double de potassium et de mercure donne un précipité jaune passant au gris. Le chlorure de platine produit un faible précipité jaune. Les acides sulfurique et phosphomolybdique et le tannin n'ont pas donné de réaction appréciable.

### *Localisation de l'alcaloïde dans* Delphinium hybridum.

Racine : L'alcaloïde y est très abondant. On le trouve d'abord en faible quantité dans les cellules de la coiffe, tandis que le méristème proprement dit n'en renferme pas. Dès que les tissus commencent à se différencier, toutes les parties, à l'exception du xylème et des poils radicaux, en contiennent. Dans la racine adulte, le parenchyme est particulièrement riche en alcaloïde (fig. 8). On y trouve cependant de temps en temps des cellules qui en sont dépourvues. L'alcaloïde est moins abondant dans l'endoderme et le péricycle. Toutes les cellules libériennes en contiennent, de même que le cambium, où il existe seulement en faible quantité.

TIGE : On constate la présence d'alcaloïde dans les parties suivantes de la tige jeune : au point végétatif, où il est surtout abondant dans les cellules périphériques des ébauches foliaires et florales ; à une certaine distance du point végétatif, il devient plus abondant et toutes les cellules du parenchyme central en renferment.

Dans la tige adulte (fig. 9), on trouve l'alcaloïde dans les restes de la moelle, dans le cambium, le liber et l'épiderme. Le sclérenchyme, le bois et les poils sont dépourvus d'alcaloïde.

FEUILLE : Dans le pétiole, l'alcaloïde occupe le liber et les restes de la moelle (fig. 10). Dans le limbe, on l'observe dans les cellules de l'épiderme inférieur, à l'exception des cellules stomatiques. On constate aussi sa présence autour des nervures.

FLEUR : Le pédoncule est assez riche en alcaloïde : il s'y trouve dans la moelle et dans le liber. Les pétales et les sépales petaloïdes le renferment dans leur épiderme externe. L'alcaloïde est plus abondant dans l'éperon. Dans les étamines, il entoure le faisceau du filet ; les anthères n'en contiennent pas.

FRUIT : On trouve l'alcaloïde dans l'épiderme externe des feuilles carpellaires. Dans les feuilles carpellaires plus développées, il s'observe aussi dans la couche cellulaire sous-jacente à l'épiderme externe. Il y existe également dans quelques cellules du mésophylle. Dans les ovules très développés, l'alcaloïde occupe le tégument, pas l'albumen.

## *Delphinium Consolida.*

Ce *Delphinium* appartient au groupe des *Delphinium* annuels. Par la couleur violette de ses fleurs, il ressemble assez bien au *D. hybridum*, tandis que ses feuilles très divisées, son annualité et sa moelle persistante le rapprochent du *D. Ajacis*. Je m'abstiendrai de donner des détails anatomiques sur cette plante, me bornant à renvoyer le lecteur à l'étude qu'en a faite Lenfant (1).

Le seul renseignement bibliographique que j'aie pu trouver sur l'alcaloïde existant dans cette espèce m'a été fourni par Dragendorff (2). D'après cet auteur, *D. Consolida* renferme un alcaloïde : la calcatrippine, indiqué par Masing. Mais Bocquillon-Limousin (3) cite cet alcaloïde comme peu connu.

Mes recherches me permettent d'affirmer que cette plante est pauvre en alcaloïde.

Dans la *racine*, j'en ai constaté la présence dans quelques cellules du parenchyme.

Dans la *tige*, il ne s'observe que dans les cellules épidermiques; et même dans cet épiderme, on trouve des cellules qui n'en contiennent pas.

Les *feuilles* ne m'ont pas paru renfermer d'alcaloïde.

Dans la *fleur*, j'ai obtenu quelques faibles réactions dans l'épiderme externe des pétales et des sépales pétaloïdes. Les follicules en contiennent dans leurs deux épidermes. Les étamines et les ovules n'en contiennent pas.

Cet alcaloïde présente un certain nombre de réactions intéressantes : l'iodure de potassium iodé le précipite en brun-kermès; l'iodure double de mercure et de potassium, en jaune grisâtre; l'acide phosphomolybdique, en jaune pâle; le chlorure d'or, en gris noirâtre (il y a probablement réduction du sel d'or). Cet alcaloïde permet l'emploi de la méthode de précipitation et de conservation que j'ai décrite pour *Caltha.* L'acide picrique le précipite en jaune; le perchlorure, de fer en gris. J'ai obtenu aussi un faible précipité jaune par l'acide sulfurique : je n'oserais cependant pas garantir la constance de cette réaction. L'acide sulfurique, associé à l'eau de brome, le précipite en jaune; cette réaction (de Stüder) est citée comme étant particulière à la delphinine.

---

(1) LENFANT, *loc. cit.*

(2) DRAGENDORFF, *Die Heilpflanzen*, Stuttgart, 1898, S. 227.

(3) *Formulaire des alcaloïdes et des glucosides*. Paris, Baillière, 2ᵉ éd., 1899, p. 193.

## *Delphinium Ajacis.*

Au point de vue anatomique et biologique, ce *Delphinium* est en grande partie semblable au *D. Consolida.* L'étude anatomique en a été faite par Lenfant. Il existe quelques différences histologiques entre les deux espèces. J'en avais déjà observé quelques-unes quand j'ai eu communication du travail de Lenfant. Les voici : dans *D. Ajacis,* la tige contient un plus grand nombre de faisceaux, les tissus sont plus riches en sclérenchyme, les poils sont moins nombreux que dans *D. Consolida.*

L'alcaloïde de *D. Ajacis,* sur lequel je n'ai trouvé aucun renseignement bibliographique, présente la plupart des réactions générales des alcaloïdes. Au point de vue de la richesse alcaloïdique, *D. Ajacis* dépasse de loin *D. Consolida.*

Dans la *racine*, la base végétale se trouve dans le cambium, le liber et la majeure partie du parenchyme cortical (fig. 11). Le péricycle, l'endoderme, le bois et les poils radicaux n'en contiennent pas.

La *tige* en contient dans son épiderme. On l'observe aussi dans la moelle où il accompagne l'amidon. L'alcaloïde est surtout abondant dans la partie de la moelle qui borde les faisceaux. Le liber, le bois, le sclérenchyme et les poils n'en renferment pas. Il en est de même des *feuilles.*

Quant à la *fleur*, les pétales et les sépales contiennent l'alcaloïde dans leur épiderme externe. Les étamines n'ont pas donné de réaction. Dans l'ovaire, l'alcaloïde ne se trouve que dans l'épiderme externe des feuilles carpellaires.

### *Delphinium Staphisagria.*

Pour l'anatomie de cette plante, je renvoie au travail de Lenfant.

La toxicité du *D. Staphisagria* est connue de longue date et a été démontrée maintes fois. C'est principalement la graine qui a fait l'objet de recherches chimiques.

D'après Marquis et Dragendorff (1), cette graine contient quatre alcaloïdes :

1° La delphinine, $C^{22}H^{35}AzO^{6}$, cristalline, très toxique, fondant à 120° ;

2° La delphinoïdine, $C^{42}H^{68}Az^{2}O^{7}$, amorphe, fondant entre 110° et 120° ;

3° La delphisine, $C^{27}H^{46}Az^{2}O^{4}$, cristalline, fondant à 189° ;

4° La staphisagrine, $C^{22}H^{33}AzO^{5}$, amorphe, fondant à 90°.

### *Caractères chimiques de l'alcaloïde de* Delphinium Staphisagria.

Avec l'iodure de potassium iodé il donne, dans les cellules, un précipité brun-kermès ; avec l'iodure double de potassium et de mercure, un précipité gris brunâtre, peu net ; avec l'acide picrique, un précipité jaune sale. Le tannin le précipite en blanc.

Beilstein indique plusieurs réactifs spéciaux à la delphinine, entre autres l'acide malique associé à l'acide sulfurique, qui donnerait une coloration orangée, puis rose foncé, et enfin bleu sale. Cette réaction ne m'a pas réussi.

---

(1) Cités dans Husemann-Hilger, *Pflanzenstoffe*, 2. Ausg., S. 617. — Pour les formules chimiques de ces alcaloïdes, j'ai suivi Beilstein, *Handbuch*, 3. Ausg., Bd III, 1897, SS. 879-880.

### *Localisation de l'alcaloïde de* Delphinium Staphisagria.

RACINE : On y constate la présence d'alcaloïde dans le parenchyme. La quantité diminue en allant de l'extérieur vers l'intérieur. L'alcaloïde existe aussi dans l'endoderme, le péricycle, le liber et le cambium.

Je n'ai pas eu l'occasion d'examiner des points végétatifs de la racine.

TIGE : Au point végétatif de la tige, l'alcaloïde est surtout abondant au centre du tissu méristématique et dans les cellules situées à la périphérie des mamelons destinés à produire les fleurs et les feuilles. Dès que les tissus se différencient, l'alcaloïde apparaît dans les libers des jeunes faisceaux. Dans la tige adulte, il s'observe surtout dans la moelle, qui persiste et qui est, en outre, bourrée d'amidon. Les libers contiennent aussi la substance alcaloïdique. L'épiderme en est assez abondamment pourvu. Le bois, le sclérenchyme, le parenchyme cortical et les poils n'en contiennent pas.

FEUILLE : Dans le pétiole, l'alcaloïde occupe la moelle, le liber et l'épiderme. Dans le limbe, il existe en faible quantité dans le liber des nervures. Les épidermes, les poils et le mésophylle n'ont pas donné de réactions permettant d'y soupçonner la présence d'un alcaloïde.

FLEUR : Dans les sépales pétaloïdes et les pétales, l'alcaloïde existe en faible quantité autour des nervures. Dans les étamines, il entoure le faisceaux du filet. Les anthères n'en contiennent pas. Dans l'ovaire, j'ai constaté la présence d'alcaloïde dans l'épiderme interne de la feuille carpellaire et autour de ses nervures. Les ovules n'ont donné aucune réaction bien nette. Les noyaux des cellules prennent une coloration brune par l'action de l'iodure de potassium iodé, mais elle persiste après traitement par l'alcool tartrique.

La localisation de l'alcaloïde dans la graine de *D. Staphisagria* ayant été faite par Clautriau (1), je ne m'en suis pas occupé. Qu'il me suffise de rappeler que cet auteur a trouvé que l'alcaloïde est répandu uniformément dans les cellules de l'albumen.

### *Delphinium grandiflorum.*

Au point de vue anatomique, cette espèce ne s'écarte pas des autres *Delphinium.* La racine est fortement lignifiée, de même que la tige. Le sclérenchyme est assez abondant dans cette dernière; la moelle est riche en amidon. L'alcaloïde de *D. grandiflorum* a présenté dans les cellules les réactions caractéristiques par l'iodure de potassium iodé et l'iodure double de potassium et de mercure.

### *Localisation de l'alcaloïde de* Delphinium grandiflorum.

Racine : J'ai obtenu ici des réactions dans le parenchyme. L'alcaloïde y est abondant et s'y trouve en compagnie de l'amidon. Les cellules compagnes des tubes criblés contiennent aussi de faibles quantités d'alcaloïde. Autour des cribles, on observe de fines granulations animées d'un vif mouvement brownien. Elles se colorent en brun par l'iodure de potassium iodé, mais la réaction persiste après traitement prolongé par l'alcool tartrique. De plus, en présence de l'iodure de potassium iodé, elles présentent toutes les nuances depuis le brun jusqu'au bleu. On a très probablement affaire ici à de l'amidon transitoire en train de se transformer en érythrodextrine et en sucre. Les différentes teintes observées correspondraient aux diverses phases de la transformation.

---

(1) *Localisation et signification des alcaloïdes dans quelques graines.* (Mém. de la Soc. belge de microsc., t. XVIII, 1894, p. 43, ou Recueil de l'Institut botanique de Bruxelles, t. II.)

Je n'ai pu observer des points végétatifs de racine.

TIGE : Au point végétatif même, l'alcaloïde n'existe pas; mais à mesure que les tissus se différencient, on le voit apparaître dans le parenchyme. Les mamelons qui donneront naissance aux fleurs et aux feuilles en renferment dans leurs cellules épidermiques.

Dans la tige adulte, l'alcaloïde siège dans le liber et dans la moelle (accompagnant l'amidon dans celle-ci).

FEUILLE : Le pétiole présente de l'alcaloïde dans le liber, dans la partie de la moelle contiguë aux faisceaux et dans l'épiderme. Les poils n'en contiennent pas. Dans le limbe, j'ai trouvé l'alcaloïde dans l'épiderme supérieur.

FLEUR : Dans les sépales et les pétales, l'alcaloïde se localise dans l'épiderme supérieur. Il n'existe pas dans les étamines. Dans l'ovaire, il se trouve dans l'épiderme externe de la feuille carpellaire. Absence d'alcaloïde dans les ovules.

## § III. — GENRE ACONITUM.

### *Aconitum Lycoctonum.*

Les alcaloïdes de cette Renonculacée sont peu connus. En 1857, Hübschmann a retiré de la racine de cet Aconit deux alcaloïdes : l'acolyctine et la lycoctonine. Plus tard, Dragendorff et Spohn ont trouvé dans cette même racine la lycaconitine ($C^{27}H^{34}Az^{2}O^{6} + 2H^{2}O$) et la myoctonine ($C^{27}H^{34}Az^{2}O^{6} + 5H^{2}O$).

D'après Hübschmann, l'acolyctine est une poudre blanche, amorphe, d'un goût amer, à réaction alcaline, neutralisant les acides, facilement soluble dans l'eau, l'alcool et le chloroforme, insoluble dans l'éther. Elle serait précipitée par l'acide phosphomolybdique et par le chlorure d'or.

La lycoctonine serait peu soluble dans l'eau, facilement dans l'alcool, difficilement dans l'éther.

D'autre part, les travaux de Wright et de Lüff ont établi qu'*A. Lycoctonum* semble contenir de l'aconitine et de la pseudaconitine; l'acolyctine et la lycoctonine seraient respectivement identiques à des produits de dédoublement de ces bases : l'aconine et la pseudaconine.

Voilà les principales idées émises au sujet des alcaloïdes d'*A. Lycoctonum* (1). On voit que la question n'est pas exempte de confusion.

Dans les cellules, l'alcaloïde d'*A. Lycoctonum* est précipité en brun-kermès par l'iodure de potassium iodé; en jaune par l'iodure double de mercure et de potassium; en jaune pâle par l'acide phosphomolybdique et en jaune par l'acide picrique.

### *Localisation de l'alcaloïde d'*Aconitum Lycoctonum.

Dans la *racine,* il existe dans le liber, à l'exception des tubes criblés, dans le cambium, dans la couche externe de la moelle (fig. 12). On le trouve aussi dans l'endoderme et le péricycle.

Dans la *tige,* l'alcaloïde est très abondant dans la moelle. On y observe cependant des cellules sans alcaloïde. On trouve aussi l'alcaloïde dans le cambium et dans le liber (fig. 13).

Dans la *feuille,* l'alcaloïde n'existe que dans le liber du pétiole.

La *fleur* est très riche en alcaloïde. On le trouve dans le pédoncule, où il existe partout, excepté dans les poils et la partie ligneuse des faisceaux. Les sépales en renferment dans leurs deux épidermes et dans leur parenchyme. Dans ce dernier tissu, il est cependant moins abondant. Je n'ai pu observer comment l'alcaloïde se comporte dans les nervures des sépales. Les poils n'en contiennent pas. Dans les pétales avortés, l'alcaloïde existe peu abondamment dans le parenchyme et dans le liber du faisceau central. Dans les étamines, il se localise autour du faisceau du filet. Les anthères n'en contiennent pas. Dans le style, l'alcaloïde occupe le parenchyme en compagnie d'amidon. L'ovaire contient l'alcaloïde dans le parenchyme et dans l'épiderme externe de la feuille carpellaire. Il n'y a pas d'alcaloïde dans les ovules.

---

(1) Husemann-Hilger, *op. cit.,* SS. 628-630.

### *Aconitum Anthora.*

Dragendorff a extrait de l'aconitine de cette plante. Extérieurement, cet Aconit ressemble assez bien au Napel. Il est pourvu de rhizomes épais, sur lesquels naissent les racines et les tiges.

### *Caractères de l'alcaloïde d'*Aconitum Anthora.

Dans les cellules, l'iodure de potassium iodé le précipite en brun-kermès; l'acide phosphomolybdique en jaune pâle; le chlorure d'or en gris (le précipité devient noir ensuite); l'acide picrique et le perchlorure de fer en jaune. L'acide sulfurique ne produit pas de réaction.

J'ai constaté la présence d'alcaloïde dans les parties suivantes de la plante :

Rhizome : L'alcaloïde y occupe le parenchyme, en compagnie d'amidon. Il est surtout abondant vers la périphérie de l'organe. On observe aussi des cellules du parenchyme non pourvues d'alcaloïde. Les faisceaux n'en contiennent pas. Dans la *racine*, l'alcaloïde occupe le parenchyme. Il est moins abondant dans la racine que dans le rhizome. Je n'ai pas constaté la présence d'alcaloïde dans le point végétatif de la racine ni dans les poils radicaux.

Tige : L'alcaloïde s'y montre dans toutes les cellules du liber. Dans les tubes criblés, c'est dans le voisinage des cribles que la réaction est la plus forte : elle disparaît par l'alcool tartrique. J'ai observé encore l'alcaloïde dans la partie de la moelle qui touche les faisceaux (fig. 14). L'épiderme et les poils en sont dépourvus.

Feuille : Dans le pétiole, je n'ai obtenu de précipité d'alcaloïde que dans les cellules du parenchyme cortical qui bordent le liber. Le limbe ne contient l'alcaloïde dans aucune de ses parties. Il en est de même des fleurs, sauf pour l'ovaire, qui renferme de l'alcaloïde dans ses parties externes. Les ovules n'en contiennent pas.

Si l'on s'en rapporte aux recherches de Clautriau sur la localisation de l'alcaloïde dans *Aconitum Napellus* (1), on voit qu'au point de vue de leur richesse en alcaloïde, les deux espèces précitées diffèrent notablement du Napel. Clautriau a constaté que dans le Napel l'alcaloïde est répandu, mais non également, dans toutes les parties de la plante. Dans *A. Lycoctonum* et *Anthora*, il y a au contraire beaucoup de parties de la plante qui n'en renferment pas. D'autre part, *A. Lycoctonum* est plus riche en alcaloïde que *A. Anthora*. On peut donc reconnaître dans le genre *Aconitum* une série ascendante quant à la teneur alcaloïdique : *A. Napellus* occuperait le sommet de la courbe, tandis qu'*A. Anthora* ou une autre espèce en occuperait la base. La même remarque peut s'appliquer au genre *Delphinium*.

## § IV. — Genre ADONIS.

Les plantes de ce genre renferment des substances qui leur donnent des propriétés irritantes. Certains chimistes se sont occupés de l'analyse de divers *Adonis*. Cervello (2) a extrait des racines d'*A. vernalis* un glycoside : l'adonidine. D'après cet auteur, l'adonidine est une substance cristalline hygroscopique, non azotée, soluble dans l'eau et l'alcool, précipitable par le tannin, amère, inodore. En présence des acides dilués en ébullition, elle se dédouble en glycose et en une matière résineuse. D'après Huchard (cité par Bocquillon-Limousin), l'adonidine agit sur le cœur en modérant son action.

---

(1) *Premières recherches sur la localisation et la signification des alcaloïdes dans les plantes,* par L. Errera, Maistriau et Clautriau, p. 15 du tiré à part.

(2) Arch. exp. Pathol., Bd XV, S. 235. (Cité par Jacobsen, *Glycoside,* 1887, S. 10.) — Voir aussi Bocquillon-Limousin, *Formulaire des alcaloïdes et des glucosides,* 2e éd., 1899, p. 226.

Un corps analogue à l'adonidine a été extrait d'*A. cupana* (1).

J'ai étudié *A. vernalis* et *A. æstivalis*. La dernière de ces deux espèces ne m'a semblé contenir ni alcaloïde ni glycoside dans aucun de ses organes. *A. vernalis*, au contraire, a donné les résultats suivants :

La *racine* et les *rhizomes* contiennent un alcaloïde dans le liber, le péricycle et l'endoderme.

*Bourgeons souterrains :* Ces bourgeons donnent naissance aux tiges de l'année suivante, dont ils renferment par conséquent le point végétatif. Le point végétatif proprement dit ne présente pas d'alcaloïde, mais à une faible distance de ce point, là où les tissus ne sont pas encore différenciés, on obtient des précipités dans toutes les cellules. Il n'y a que les deux ou trois assises cellulaires externes qui ne donnent pas la réaction (fig. 15). Dans la région à tissus partiellement différenciés, les réactions sont moins nettes et ne se montrent qu'autour des faisceaux en voie de formation.

On obtient encore des réactions dans les cellules épidermiques des écailles qui recouvrent les points végétatifs des tiges (fig. 16).

Les *tiges adultes* et les *feuilles* n'ont donné aucune réaction. Je ferai toutefois remarquer que les tiges et les feuilles que j'avais à ma disposition avaient souffert de la sécheresse.

---

(1) CERVELLO, *Gazz. chim. italiana*, t. XIV, p. 493 (*cit. ibid.*).

Notons encore en passant que Linderos signale dans les feuilles d'*A. vernalis* l'acide aconitique (1).

Je n'ai pas eu l'occasion d'examiner des fleurs.

### *Caractères chimiques, dans les cellules, de l'alcaloïde d'*A. vernalis.

Cette substance donne un précipité brun-kermès avec l'iodure de potassium iodé; jaune grisâtre avec l'iodure double de mercure et de potassium; gris sombre avec le tannin. L'acide phosphomolybdique la précipite en jaune pâle; le précipité devient ensuite bleuâtre. Avec le chlorure d'or, il se produit un léger précipité jaune, qui noircit ensuite. L'acide sulfurique concentré la colore en rose. Cette réaction est surtout nette dans les cellules épidermiques des écailles qui recouvrent les bourgeons souterrains. Elle rappelle la réaction de divers glycosides. Cette analogie est d'autant plus admissible que l'adonidine a été précisément extraite des organes souterrains d'*A. vernalis*. Ensuite, d'après Cervello, l'adonidine est précipitable par le tannin. Or, j'ai obtenu avec le tannin un précipité gris sombre. D'autre part, la substance produit la plupart des réactions spéciales aux alcaloïdes. Peut-être faut-il donc admettre que les organes souterrains d'*A. vernalis* renferment un glycoside alcaloïdique.

## § V. — GENRE RANUNCULUS.

Le genre *Ranunculus* renferme plusieurs espèces réputées très toxiques, telles le *R. sceleratus* et le *R. acris*. On ne s'est guère occupé de l'étude de la cause de cette toxicité. Erdmann (1) croit à l'existence d'anémonine dans les feuilles de *R. sceleratus*. Nestler a constaté la présence d'oxalate de chaux chez beaucoup d'espèces (2).

---

(1) *Ann. Chem. Pharm.*, Bd CLXXXII, S. 365 (cité par Husemann-Hilger).

J'ai essayé vainement, à différentes époques, de trouver un alcaloïde dans les espèces suivantes : *R. Lingua*, *repens*, *sceleratus*, *muricatus*, *acris*, *tuberosus* et *arvensis*. Pourtant beaucoup de ces espèces sont éminemment toxiques. J'ai essayé aussi, sans résultat, le traitement par l'acide sulfurique concentré, pour mettre éventuellement en évidence un glycoside.

Il est donc à supposer que les *Ranunculus* vénéneux doivent cette propriété à d'autres substances que les alcaloïdes ou les glycosides.

## § VI. — GENRE CLEMATIS.

Comme le genre *Ranunculus*, le genre *Clematis* a été peu étudié quant à la composition chimique.

D'après Braconnot (3), beaucoup d'espèces de *Clematis*, notamment : *Cl. Vitalba* et *Cl. Flammula*, donnent par distillation une substance se présentant en écailles blanches et ayant l'odeur du raifort. Ce produit a été nommé « camphre de Clématite ».

J'ai traité, par les différents réactifs des alcaloïdes, des coupes des organes aériens et souterrains de *Cl. Vitalba*, *Cl. stans* et d'une troisième espèce indéterminée. Je n'ai obtenu aucun résultat. J'ai employé sans plus de succès l'acide sulfurique concentré.

---

(1) JOURN. F. PR. CHEMIE, Bd LXXV, S. 209 (cité par HUSEMANN-HILGER).

(2) AKAD. D. NATURF. ZU HALLE, Bd LXIII, 1895.

(3) POGGENDORFF ANNALEN, Bd II, S. 415; Bd III, S. 288 (cité par HUSEMANN-HILGER).

## § VII. — Genre CIMICIFUGA.

Trimble (1) et Conard (2) ont fait quelques recherches sur les substances chimiques contenues dans *C. racemosa*, mais leurs travaux n'ont guère donné de résultats définitifs.

Trimble et Falck (3) font mention de la cimicifugine, alcaloïde extrait de *C. racemosa*.

J'ai pu étudier des tiges et des feuilles de *C. americana* et *fœtida*. Ces organes ne m'ont paru contenir ni alcaloïde ni glycoside.

## § VIII. — Genre FICARIA.

J'ai examiné *F. ranunculoides* et *F. calthæfolia*. Ces plantes renferment énormément d'amidon dans leurs organes souterrains. Elles n'ont donné aucune réaction permettant de conclure à l'existence d'un alcaloïde.

## § IX. — Genre THALICTRUM.

Le genre *Thalictrum* a fourni jusqu'à ce jour un alcaloïde : la thalictrine, extrait de *Th. macrocarpum* par Doassans et Mourrut (4). Je n'ai pu me procurer cette espèce. J'ai étudié *Th. anemonoides* et *adiantifolium*. Ces espèces ne m'ont pas paru renfermer d'alcaloïde.

---

(1) Americ. Journ. Pharmac. (4), t. L, p. 468 (cité par Husemann-Hilger).

(2) Jahresb. Pharm., 1871, S. 152 (*cit. ibid.*).

(3) Cités par Dragendorff, *Heilpflanzen*, 1898, S. 223.

(4) Journ. de pharm. et de chimie, 1880, p. 509.

## § X. — ERANTHIS HIEMALIS.

J'ai étudié sans succès les tubercules, les fleurs et les feuilles de cette Renonculacée : aucune réaction alcaloïdique.

## § XI. — GENRE PÆONIA.

Jagi a extrait de la racine de *P. Moutan* une substance cristalline, soluble dans l'alcool et l'éther, fondant à 45° (1).

Dragendorff, Mandelin et Johannsen (2) ont étudié la composition chimique de la graine de *P. peregrina* et y ont trouvé de l'huile, du sucre, de la pectine et un alcaloïde : la pérégrinine.

Nestler a observé de l'oxalate de chaux chez quelques *Pœonia*.

*P. peregrina* n'étant guère cultivé en Belgique, il m'a été impossible d'étudier cette espèce.

J'ai fait des recherches microchimiques sur les organes aériens et souterrains de *P. Moutan*, *officinalis*, *mollis*. Aucune de ces espèces ne m'a semblé contenir un alcaloïde. Leurs rhizomes sont des réservoirs d'amidon. Les graines sont généralement recouvertes d'un tégument coloré, ce qui rend très difficile l'examen de ce tissu. L'albumen n'a donné aucune réaction d'alcaloïde.

## § XII. — GENRE ANEMONE.

Ce genre a fourni une substance vésicante, mais non alcaloïdique, ni glycosidique : l'anémonine. Elle est blanche, cristallisable, neutre au tournesol, peu soluble dans l'eau et l'éther, plus soluble dans l'alcool, toxique, ayant pour formule $C^{15}H^{12}O^{6}$. Elle a été extraite des *A. Pulsatilla, pratensis* et *nemorosa*.

---

(1) ARCH. PHARM. (3), Bd XIII, S. 335 (cité dans HUSEMANN-HILGER, p. 661).

(2) Cités *ibid.*

J'ai examiné *A. japonica, nemorosa, pratensis* et *Pulsatilla*. Je n'ai obtenu de réaction alcaloïdique dans aucun des organes de ces espèces.

## § XIII. — ACTÆA SPICATA.

J'ai étudié sans résultat les racines, les tiges, les feuilles, les fleurs et les fruits de cette Renonculacée.

## § XIV. — GENRE HELLEBORUS.

Les *Helleborus* ont de tout temps intéressé les chimistes et les herboristes, à cause de leurs propriétés drastiques et caustiques. Déjà en 1853, Bastick (1) parvint à extraire des racines d'*H. niger, viridis* et *fœtidus* un corps de nature glycosidique qu'il nomma helléborine et auquel il attribue la formule $C^{36}H^{42}O^{6}$. Cette substance fut étudiée de plus près, en 1865, par Husemann et Marmé (2).

Voici, telles que les résume Jacobsen (3), les propriétés de ce glycoside. Il cristallise en aiguilles brillantes et incolores. Il est neutre, insoluble dans l'eau froide, peu soluble dans l'éther et le chloroforme, très toxique et drastique. L'acide sulfurique le dissout lentement en donnant une coloration rouge intense. Chauffée avec une solution concentrée de chlorure de zinc ou avec les acides minéraux dilués, l'helléborine se décompose en sucre et un autre produit, l'helléborésine :

---

(1) PHARM. JOURN. TRANSACT., t. XII, p. 174.

(2) ANN. CHEM. PHARM., Bd CXXXV, S. 61.

(3) JACOBSEN, *Die Glykoside*, 1887, S. 88.

$$C^{36}H^{42}O^{6} + 4H^{2}O = C^{6}H^{12}O^{6} + C^{30}H^{38}O^{4} (?).$$

En 1864. Marmé (1) a retiré des mêmes *Helleborus* un deuxième glycoside : l'helléboréine ($C^{26}H^{44}O^{15}$), qui existerait dans ces espèces à côté de l'helléborine. Cette helléboréine a un goût sucré. Par l'ébullition avec les acides, elle se dédouble en sucre et helléborétine :

$$C^{26}H^{44}O^{15} = 2C^{6}H^{12}O^{6} + C^{14}H^{20}O^{3} (?) \text{ (helléborétine).}$$

L'helléborétine se sépare sous forme de flocons bleus. A l'état sec, elle a l'aspect d'une poudre d'un vert sombre, insipide, insoluble dans l'eau et l'éther; elle n'est pas toxique.

J'ai eu à ma disposition de l'helléboréine provenant de la fabrique Merck, de Darmstadt. Ce produit a l'aspect d'une poudre d'un blanc jaunâtre, amorphe, insoluble dans l'alcool. L'acide sulfurique le dissout en donnant une coloration brune intense. Les acides azotique, picrique, phosphomolybdique, chlorhydrique, phosphorique, l'iodure de potassium iodé et tous les réactifs généraux des alcaloïdes n'ont donné aucune réaction apparente avec le produit en question.

La localisation microchimique des glycosides des *Helleborus* n'a jamais été faite, à ma connaissance. J'ai étudié *H. niger*. Cette espèce n'a donné de réaction alcaloïdique dans aucun de ses organes. Pour mettre en évidence les glycosides, j'avais d'abord fait agir sur les coupes l'acide sulfurique concentré, croyant obtenir la coloration rouge indiquée par Jacobsen et la plupart des auteurs ; mais cet essai n'a rien démontré.

---

(1) A. HUSEMANN et W. MARMÉ, *Ann. Chem. Pharm.*, Bd CXXXV, S. 55. — MARMÉ, *Zeitschr. für rat. Medic.* (3), Bd 26, S. 1.

Dans la suite, j'ai eu recours aux deux réactifs préconisés par Molisch pour la recherche des hydrates de carbone solubles : l'α-naphtol et le thymol (1).

Voici la manière d'opérer :

Sur les coupes modérément minces des organes à examiner, on fait agir une goutte d'une solution alcoolique de 15 à 20 °/₀ d'α-naphtol. (La solution que j'ai employée était à 20 °/₀.) On ajoute ensuite à la préparation deux gouttes d'acide sulfurique concentré. Si le tissu essayé renferme de la saccharose, de la lactose, de la glycose ou de la lévulose, il se produit à peu près instantanément une coloration violette. La réaction ne se produit pas par l'inosite, la mannite ou la quercite. Si, dans les mêmes conditions, on substitue dans l'expérience précitée à l'α-naphtol une goutte d'une solution alcoolique de thymol, la coloration est rouge-carmin.

Ces deux réactifs peuvent servir plus ou moins efficacement à la localisation des glycosides. En présence de ces corps, ils produisent les mêmes colorations, mais le phénomène, au lieu d'être instantané comme dans le cas précédent, nécessite un temps relativement long (10 à 15 minutes). C'est ce qui est arrivé lorsque j'ai opéré de la façon ci-dessus indiquée sur des coupes de racines d'*H. niger*. Ce retard provient probablement de ce que l'acide sulfurique doit mettre en liberté la glycose des glycosides avant de pouvoir produire la réaction.

Par ces réactifs, j'ai donc pu constater la présence de matières à caractères glycosidiques dans les racines d'*H. niger*. Elles y existent dans tout le parenchyme, mais plus abondamment dans sa partie externe. Aux points végétatifs de racine, on ne constate leur présence que dans la coiffe ; la réaction y est peu accentuée. La stèle de la racine, les pétioles, les limbes foliaires, les points végétatifs des fleurs en sont totalement dépourvus.

---

(1) Voir à ce sujet Zimmermann, *Die botanische Mikrotechnik*, 1892, S. 73

Deux objections se présentent contre la valeur de ces réactions, du moins pour le cas présent.

D'abord, l'acide sulfurique pourrait produire du sucre avec l'amidon renfermé dans les cellules ainsi qu'avec les membranes cellulaires. Alors la réaction ne serait due qu'à la présence de ce sucre formé aux dépens de l'amidon ou de la cellulose. Il me semble que cette objection peut être écartée. En effet, je n'ai obtenu aucune coloration (même après un temps très long) dans les pétioles et les limbes foliaires où les matières glycosidiques n'existent pas, mais où se trouvent l'amidon et la cellulose tout aussi bien que dans la racine.

La seconde objection est formulée par Nickel (1). D'après cet auteur, tout un groupe de substances complexes peuvent produire ces réactions, telles les matières protéiques, la créatine et la vanilline. Les réactions résultent, suivant Nickel, de ce que l'acide sulfurique produit du furfurol avec ces substances, comme avec les hydrates de carbone. Cette objection est sérieuse. Pourtant *H. niger* renferme incontestablement un ou plusieurs glycosides. Cela est de toute évidence. Ensuite, le fait que les réactions ne se produisent que dans la racine, ce qui est une localisation toute spéciale, peut faire admettre, du moins comme très probable, que les réactions précitées résultent de la présence de glycose formée aux dépens du glycoside par l'acide sulfurique. De plus, de nombreuses analyses ont démontré que dans *Helleborus* le principal siège des glycosides est bien la racine.

## § XV. — Genre NIGELLA.

Ce genre a été, à maintes reprises, l'objet d'analyses chimiques. Schneider (2) a signalé un alcaloïde, la damascénine, dans les graines de *N. damascena*. D'après Beilstein, c'est surtout du tégument de ces graines que l'alcaloïde a été extrait. C'est une substance cristallisant en prismes, fondant à 27°, insoluble dans l'eau froide, soluble dans l'alcool, à fluorescence bleue, et ayant pour formule $C^{10}H^{15}AzO^3$.

---

(1) Em. Nickel, *Die Farbenreactionen der Kohlenstoffverbindungen* II. Aufl., 1890, S. 32.

(2) Schneider, *Dissertation de Dresde*, 1890.

Greenish (1) a extrait des graines de *N. sativa* un glycoside : la mélanthine ($C^{20}H^{33}O^7$). D'après cet auteur, la mélanthine se décompose par l'action des acides en sucre et en mélanthigénine ($C^{14}H^{23}O^2$). Cette mélanthine se colorerait en rose puis en violet en présence d'acide sulfurique. Il la compare à l'hellèborine et à l'hellèboréine. D'après Greenish et Collin, elle existerait aussi dans les feuilles de *N. damascena* et *sativa*. W. von Schultz insiste sur la toxicité de la mélanthine.

Plus tard, Paolo Pellacani (2) a étudié à son tour les graines de *N. sativa* et croit en avoir extrait deux alcaloïdes : la nigelline et la connigelline ; mais Greenish a établi qu'il s'agit ici de *N. damascena* et non de *N. sativa* (3).

### *Nigella damascena.*

J'ai examiné en premier lieu des graines mûres. Je n'y ai obtenu, dans aucun tissu, une réaction quelconque permettant de croire à l'existence d'un alcaloïde. J'ai obtenu un certain résultat dans la racine, qui contient de faibles quantités d'alcaloïde dans le cambium, le péricycle, l'endoderme et dans quelques cellules parenchymateuses situées à la périphérie de l'organe (fig. 17).

---

(1) Greenish, *Untersuchung der Samen von Nigella sativa.* (Sitzungsber. der Dorpater nat. Gesellsch., Bd V, SS. 94-103.) — Id., *Contribution to the chemistry of Nigella sativa.* (The pharmaceutical Journal and Transact., 3e sér., vol. X, n° 516, p. 909; n° 521, p. 1013.)

(2) P. Pellacani, *Ueber die wirksamen Bestandtheile des gemeinen Schwarzkümmels (Nigella sativa).* (Archiv für experim. Pathol. und Pharmacologie, Bd XVI, SS. 440-445.)

(3) Voir Dragendorff, *Heilpflanzen*, 1898, S. 222.

Les feuilles, les tiges et les fleurs n'ont pas donné de réaction.

Cet alcaloïde présente les réactions caractéristiques par l'iodure de potassium iodé et l'iodure double de mercure et de potassium. L'acide sulfurique ne le colore pas.

Ces réactions ne se produisent pas dans toutes les plantes de *N. damascena.* De plus, sur un même individu, on trouvera des racines donnant des réactions, tandis que d'autres ne les donnent pas. On se trouve là probablement en présence de variations individuelles. Je suis porté à croire que la composition du sol dans lequel la plante a été cultivée, n'est pas sans exercer une certaine influence sur la teneur du végétal en alcaloïdes. J'ai, en effet, étudié des *Nigella* cultivés dans un sol très riche en matières nutritives et d'autres provenant d'une terre très pauvre. Les racines des premières plantes renfermaient presque toujours de l'alcaloïde, tandis que chez les autres la présence d'alcaloïde était rare.

### *Nigella sativa.*

Dans le liber de la racine, j'ai obtenu une coloration rouge très fugace par l'acide sulfurique concentré. Ce fait rend probable l'existence de mélanthine dans ce tissu, puisque c'est une réaction propre à ce glycoside.

Les organes aériens n'ont pas donné de réactions.

L'$\alpha$-naphtol ou le thymol, associés à l'acide sulfurique concentré, produisent leurs colorations caractéristiques dans toutes les cellules de l'albumen de la graine, mais ces réactifs doivent agir pendant une quinzaine de minutes. L'acide sulfurique concentré produit dans le même tissu une faible coloration rosée. Cette dernière réaction appartient à la mélanthine. Il est donc permis de croire que dans *N. sativa,* le glycoside existe principalement dans l'albumen de la graine.

### *Nigella vernalis.*

Cette espèce ne semble renfermer ni alcaloïde ni glycoside.

## § XVI. — Aquilegia vulgaris.

Le genre *Aquilegia*, surtout *A. vulgaris*, a été en ces dernières années l'objet de quelques recherches chimiques. Jorissen (1) a extrait des quantités notables d'acide cyanhydrique de cette plante au moment de sa floraison. Pour cela, les végétaux convenablement divisés étaient introduits dans un ballon avec de l'eau et de l'acide sulfurique dilué, puis le tout était soumis à la distillation dans un courant de vapeur d'eau. D'après le même auteur, la présence d'acide cyanhydrique permet de croire à l'existence d'amygdaline dans ces plantes.

Hébert (2), de son côté, a trouvé de l'acide cyanhydrique dans toutes les parties vertes d'*Aquilegia*. Enfin, un jeune savant hollandais, A.-J. van de Ven (3), a répété les expériences de Jorissen et d'Hébert et déclare ne pas avoir découvert la moindre trace d'acide cyanhydrique. Ce même auteur y a recherché, sans plus de succès, l'acide cyanhydrique par la voie microchimique.

Comme j'ai répété ces recherches, je crois utile d'exposer la méthode employée pour constater dans les tissus végétaux la présence d'acide cyanhydrique. Cette méthode, imaginée par Greshoff, a été employée avec succès, pour *Pangium edule* par Treub, et par van de Ven pour le Laurier-Cerise.

---

(1) *Recherches sur la production de l'acide cyanhydrique dans le règne végétal.* (Bull. Acad. roy. Belgique, 1884; t. VIII, pp. 256-258.)

(2) Bull. de la Soc. chimique de Paris, 3e sér., t. XXIX-XXX, n° 7, p. 310.

(3) A.-J. van de Ven, *Over het cyaanwaterstofzuur bij de Prunaceæ.* Dissert. inaug., Dordrecht, 1898.

On traite les coupes à froid pendant cinq à six minutes par une solution alcoolique à 5 °/₀ de potasse ou de soude. Elles sont ensuite plongées pendant un quart d'heure environ dans une solution à 2-5 °/₀ de sulfate ferreux mélangée à une solution de 1 °/₀ de sel ferrique. Le mélange de ces deux solutions doit être chauffé au bain-marie. Après le traitement par les sels de fer, on plonge les coupes pendant cinq minutes dans une solution d'un sel acide. Par ce traitement, les parties des coupes renfermant de l'acide cyanhydrique sont colorées en bleu, grâce à la formation de bleu de Prusse.

J'ai soumis les différents organes d'*Aquilegia* à ces diverses opérations. Je n'ai constaté aucune réaction. L'acide cyanhydrique n'existait-il pas dans la plante à l'époque de mes recherches (fin juillet)? Cette hypothèse est admissible, car il résulte des recherches de Treub que, dans les plantes, l'acide cyanhydrique n'est qu'une étape de la synthèse des matières albuminoïdes. Il est possible aussi que l'acide cyanhydrique observé par Jorissen se soit formé pendant la distillation.

*Aquilegia* ne semble pas contenir d'alcaloïde. L'α-naphtol ou le thymol associés à l'acide sulfurique ont produit leur coloration caractéristique dans le parenchyme de la racine. Ce tissu renferme donc probablement un glycoside qui pourrait bien être de l'amygdaline.

Les organes aériens n'ont produit aucune réaction.

## § XVII. — Conclusions.

1. Dans la famille des Renonculacées, les plantes vénéneuses se rencontrent principalement dans deux tribus : les Renonculées et les Helléborées.

2. La toxicité de ces plantes est surtout due à la présence d'alcaloïdes ou de glycosides. Chez certaines, toutefois, elle

peut provenir de substances n'appartenant ni à l'un ni à l'autre de ces groupes de corps.

3. La localisation des alcaloïdes dans les Renonculacées présente certains traits communs aux différentes espèces.

4. Dans un même genre de Renonculacées, les diverses espèces peuvent différer beaucoup entre elles par leur richesse en alcaloïde.

5. Dans les racines, le liber et le parenchyme sont les sièges principaux des alcaloïdes. Dans les organes aériens, ils occupent principalement les tissus épidermiques, les libers et la moelle.

6. Les points végétatifs proprement dits ne contiennent en général pas d'alcaloïdes. Ces derniers apparaissent d'ordinaire dans la zone d'allongement.

7 Dans les tissus où les alcaloïdes accompagnent l'amidon de réserve, ils restent comme résidus quand l'hydrate de carbone quitte ces tissus pour être utilisé par le végétal.

8. La richesse en alcaloïdes ou glycosides d'une plante est soumise à des fluctuations dépendantes de la phase de végétation et peut-être aussi de la nature du sol. Ces facteurs ne peuvent être négligés dans le dosage ou la localisation microchimique des alcaloïdes ou des glycosides.

9. Il semble probable que les glycosides se conduisent comme des matières de réserve, placées dans les tissus qui n'éprouvent plus de modifications histologiques (véritables greniers alimentaires) et d'où la plante pourra les extraire quand le besoin s'en fera sentir.

J'adresse mes plus sincères remerciements à M. le Prof^r Léo Errera pour les judicieux conseils qu'il a bien voulu me donner au cours de mes recherches.

# EXPLICATION DES PLANCHES.

*N. B.* — La localisation des alcaloïdes est partout indiquée en brun.

## Planche I.

Fig. 1 (${}^{190}/_{1}$). — Coupe longitudinale de la partie externe d'une racine adulte de *Caltha palustris : a*, exoderme protecteur; *b*, assises corticales externes; *c*, parenchyme cortical moyen. L'alcaloïde est particulièrement abondant dans la partie *b* sous-jacente à l'exoderme; dans le parenchyme, il accompagne l'amidon.

» 2 (${}^{70}/_{1}$). — Coupe transversale d'une jeune racine de *Caltha palustris : a*, parenchyme médullaire; *b*, faisceaux ligneux; *c*, liber; *d*, endoderme; *e*, péricycle; *f*, parenchyme cortical.

» 3 (${}^{280}/_{1}$). — Coupe longitudinale de la stèle d'une racine adulte de *Caltha palustris*, à travers deux libers et un faisceau ligneux : *a*, bois; *b*, liber montrant les tubes criblés et les cellules compagnes.

» 4 (${}^{50}/_{1}$). — Cellules épidermiques de la tige de *Caltha*.

» 5 (${}^{280}/_{1}$). — Coupe longitudinale de la tige de *Caltha*, passant par un faisceau libéro-ligneux : *a*, parenchyme cortical; *b*, liber *c*, bois; *d*, moelle. L'alcaloïde existe dans les cellules compagnes, dans quelques tubes criblés au voisinage des cribles et dans la partie de la moelle qui touche au faisceau ligneux.

» 6 (${}^{70}/_{1}$). — Cellules de l'épiderme supérieur de la feuille de *Caltha* L'alcaloïde manque aux stomates.

» 7 (${}^{280}/_{1}$). — Coupe transversale d'un ovule de *Caltha*.

## Planche II.

» 8 (${}^{50}/_{1}$). — Cellules du parenchyme cortical de la racine de *Delphinium hybridum*.

FIG. 9 ($^{280}/_{1}$). — Coupe longitudinale de la tige de *D. hybridum* : *s*, sclérenchyme; *l*, liber; *c*, cambium; *b*, bois; *m*, moelle.

» 10 ($^{190}/_{1}$). — Coupe longitudinale du pétiole de *D. hybridum* : *p*, parenchyme cortical; *l*, liber; *b*, bois; *m*, moelle.

» 11 ($^{280}/_{1}$). — Coupe longitudinale de la racine de *Delphinium Ajacis* : *a*, bois; *b*, cambium; *c*, liber; *d*, parenchyme cortical.

» 12 ($^{190}/_{1}$). — Coupe longitudinale de la racine d'*Aconitum Lycoctonum* : *l*, liber; *c*, cambium; *b*, bois; *m*, moelle.

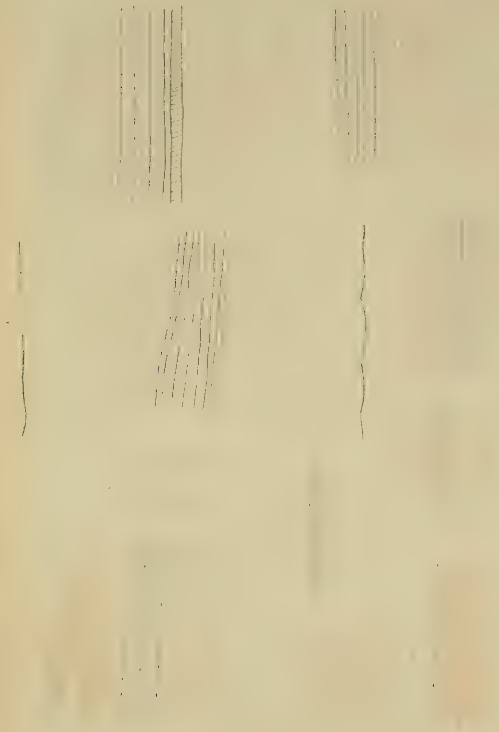
» 13 ($^{280}/_{1}$). — Coupe longitudinale de la tige d'*Aconitum Lycoctonum* : *m*, moelle; *b*, bois; *c*, cambium; *l*, liber; *éc*, écorce; *ép*, épiderme.

» 14 ($^{280}/_{1}$). — Coupe longitudinale de la tige d'*Aconitum Anthora* : *éc*, parenchyme cortical; *l*, liber; *b*, bois; *m*, moelle.

» 15 ($^{190}/_{1}$). — Coupe longitudinale d'un bourgeon souterrain d'*Adonis vernalis* dans le voisinage du point végétatif. Les tissus ne sont pas encore différenciés L'alcaloïde manque dans les couches cellulaires externes.

» 16 ($^{50}/_{1}$). – Coupe à travers une des écailles qui recouvrent le point végétatif de la tige d'*Adonis vernalis*. L'alcaloïde existe dans les deux épidermes.

» 17 ($^{280}/_{1}$). — Coupe longitudinale de la racine principale de *Nigella damascena* : *éc*, parenchyme cortical; *e*, endoderme; *p*, péricycle, *l*, liber; *c*, cambium; *b*, bois.



# RECHERCHES

SUR

# LES ORGANISMES INFÉRIEURS

PAR

**JEAN MASSART**
Professeur à l'Université de Bruxelles,
Assistant à l'Institut botanique.

## IV. — LE LANCEMENT DES TRICHOCYSTES CHEZ *Paramaecium aurelia* (1)

La couche périphérique du protoplasme des Infusoires contient parfois des organelles singuliers, qui peuvent être lancés brusquement à quelque distance. Ce sont les trichocystes. D'après les listes qui ont été publiées par M. Maupas (**8**, p. 607) et par M. Bütschli (**1**, p. 1459), ce sont surtout les Infusoires Holotriches qui les possèdent.

Chez *Paramaecium aurelia,* les trichocystes sont extrêmement nombreux. Dans la cellule au repos, on les voit régulièrement disposés à la périphérie du cytoplasme sous la forme de petites vacuoles transparentes et réfringentes, à l'intérieur desquelles il n'est pas possible d'apercevoir la moindre structure. Tout à coup, sous l'influence d'un excitant, les vacuoles réfringentes disparaissent : l'Infusoire s'est entouré d'une auréole d'aiguilles très fines. On a vraiment l'impression que chaque vacuole contenait un liquide qui, par une contraction énergique du cytoplasme voisin, a été lancé à distance, en un jet très fin qui s'est instantanément solidifié. Ce phénomène de solidification serait analogue à celui qui accompagne la production de la soie chez les araignées et les chenilles.

---

(1) Ce travail paraît simultanément ici et dans le *Bull. de l'Acad. roy. de Belgique* (Classe des sciences), n° 2, pp. 91-106, 1901. — Les n$^{os}$ I, II et III se trouvent résumés au t. IV du présent Recueil.

Mais ce n'est pas de la structure de ces organelles que je me suis occupé. J'ai recherché quels sont les excitants qui provoquent le lancement des trichocystes et quelles modifications les agents extérieurs font subir à ce réflexe. Cette note comprend donc deux parties bien distinctes.

Pour la facilité de l'exposition, il sera avantageux de désigner ce réflexe tout entier, depuis l'excitation jusqu'à la réaction, par le terme *bolisme,* analogue aux termes taxisme (orientation du corps), tropisme (courbure), etc., qui désignent d'autres réflexes, relativement simples, chez les organismes inférieurs et chez les végétaux. Les mots composés : thermobolisme, chimiobolisme, etc. (comparables à géotropisme, chimiotaxisme, etc.), indiqueront quel est l'excitant qui met en jeu le réflexe.

Les premières expériences sur le bolisme de *Paramaecium aurelia* ont été faites en avril 1897, pendant que le laboratoire ambulant de biologie de l'Université de Bruxelles était installé à Samson, dans la vallée de la Meuse; elles ont été reprises et complétées en janvier 1901 à l'Institut botanique.

## I. — EXCITANTS DU BOLISME.

### *A.* — Agents mécaniques.

Il est facile de comprimer plus ou moins fortement les Infusoires par des pressions exercées sur la lamelle qui couvre la préparation. Aussi longtemps qu'on ne produit qu'une déformation du corps, aucun trichocyste n'est lancé. Le bolisme se fait petit à petit dès que la compression a déterminé un léger écrasement de la cellule et l'élimination de vacuoles sarcodiques à travers les fissures de la membrane. Lorsque la pression est plus énergique et que le corps est écrasé avec expulsion de la bouillie cytoplasmique, le bolisme s'arrête tout à fait.

## *B.* — AGENTS PHYSIQUES.

### 1. *Électricité.*

Je n'ai pas eu l'occasion de l'étudier personnellement, mais d'autres observateurs ont montré que cet agent met en jeu le bolisme.

Par le choc d'induction, tel que le donne le chariot de Du Bois-Reymond, M. A. Wrzesniowski (**13,** pp. 41 et suiv.) a vu que le corps du *Paramaecium* se contracte fortement et lance tous ses trichocystes à la fois. Quand le choc est moins violent, les trichocystes ne sont déchargés que partiellement; de plus, ils ne sont pas lancés au loin, mais restent piqués dans le corps.

M. Ludloff (**7**) a vu que le courant continu détermine également le bolisme. Dans la figure 11 de la planche VII, il montre la contraction de la cellule à l'extrémité tournée vers l'anode et l'expulsion des trichocystes.

### 2. *Température.*

a) *Échauffement rapide.* Quand on chauffe brusquement les *Paramaecium* au-dessus d'une flamme, ils meurent vers 40° à 42°. Avant de mourir, ils lancent tous leurs trichocystes.

b) *Échauffement graduel.* La mort survient encore vers 40° à 42°; aucun trichocyste n'est lancé.

Quand on les chauffe lentement (à l'aide d'une platine chauffante) jusque vers 38°, puis brusquement jusque vers 42°, la mort n'est pas précédée de bolisme. Mais quand l'échauffement graduel ne les amène que vers 35° et qu'alors on les chauffe rapidement, tous les trichocystes sont lancés.

Ces expériences montrent que l'excitation thermique se manifeste chaque fois que la température passe rapidement (en quelques secondes) de 35° à 38°; au-dessous de 35°, l'élévation brusque de la chaleur n'a aucun effet bolique; au-dessus de 38°, on est également en dehors de la zone d'irritabilité.

c) *Refroidissement.* Qu'il soit rapide ou qu'il soit lent, l'abaissement de la température jusqu'à 0° ne détermine aucun bolisme.

### 3. *Pression osmotique.*

Les Infusoires fuient les solutions hypertoniques, quelle que soit la substance dissoute. Ceux qui se laissent surprendre par le liquide trop concentré, ralentissent bientôt leurs mouvements ciliaires; puis le corps se ratatine, à cause de la soustraction d'eau, et des plis longitudinaux apparaissent dans la cuticule; enfin, ils s'arrêtent et meurent. A aucun moment, ils ne lancent de trichocystes.

## *C.* — AGENTS CHIMIQUES.

Tous ceux qui se sont occupés des trichocystes de *Paramaecium* signalent leur expulsion sous l'influence de certaines substances. M. Maupas (**8**, p. 614) cite l'alcool, l'acide acétique à 1 °/₀ et surtout le chlorure d'or à 1 °/₀. M. Wrzesniowski a fait lui-même certaines observations; il cite aussi, d'après M. Kölliker (**6**, p. 12), l'acide acétique et l'acide chlorhydrique, et d'après M. Du Plessis (**3**, pp. 12 et suiv.), l'acide sulfurique, le sublimé, les bicarbonates alcalins, les tartrates acides, etc. Les résultats obtenus par les divers observateurs sont loin de concorder. D'ailleurs, j'ai observé moi-même des résultats contradictoires : lors de mes premières expériences, à Samson, les *Paramaecium* (vivant dans un purin) n'effectuaient aucun bolisme en présence d'acide acétique ni de sublimé; l'acide picrique agissait mal. Par contre, ceux que j'ai employés récemment (sortant d'une infusion de matières végétales en décomposition), lançaient leurs trichocystes par l'acide picrique, l'acide acétique et le sublimé. D'autre part, en décembre 1896, M. Maurice Philippson, en ce temps étudiant en sciences, a cultivé pendant plusieurs semaines à l'Institut botanique, dans de l'eau fortement jaunie par l'acide picrique, des *Paramaecium* qui sortaient du bassin à *Victoria regia* du Jardin botanique; ils ne semblaient aucunement incommodés par l'acide picrique et ne lançaient pas leurs trichocystes. Ces quelques faits montrent, une fois de plus, l'extrême variabilité de cet Infusoire, à moins que nous n'ayons eu affaire à des espèces différentes de *Paramaecium* (par exemple, *P. aurelia* et *P. caudatum*).

Sur des individus provenant d'une même culture, l'action des diverses substances chimiques est également des plus variables, même lorsqu'elles appartiennent à une même classe de corps : les acides n'agissent pas tous de la même façon, pas plus que les alcalis, les alcools, etc. Chaque matière a son action spécifique et, pour aucun corps, on ne peut, par analogie, indiquer d'avance si oui ou non il provoquera le bolisme.

Voici les trois cas les plus typiques qui se présentent :

a) *Lancement brusque de tous les trichocystes à la fois.* Telle est la réaction que donne l'acide picrique. L'Infusoire, touché par la solution, s'arrête et lance tous ses trichocystes. Quand on a ajouté à la solution d'acide picrique un peu de bleu d'aniline (soluble dans l'eau), on voit se former autour de la cellule, colorée en jaune, une auréole de trichocystes qui se colorent instantanément en bleu.

En prenant quelques précautions, on peut faire pénétrer très lentement la solution d'acide picrique sous la lamelle; il arrive alors que certains individus ne sont touchés que par une de leurs moitiés, tandis que la face opposée reste indemne : le bolisme ne se manifeste que sur la portion atteinte par le réactif; jamais on n'observe la moindre irradiation du réflexe des points touchés vers les trichocystes situés à quelques microns de distance.

L'acide osmique, l'acide chromique et l'alcool agissent à peu près de même.

b) *Lancement graduel des trichocystes à faible distance.* Dans le bleu de méthylène (de Höchst) à $^1/_{400}$, les organismes continuent à nager à la façon habituelle. Mais petit à petit, ils décochent tous leurs trichocystes; ceux-ci se colorent immédiatement, de sorte que chaque Infusoire laisse un sillage de minuscules aiguilles bleues.

c) *Mort des Infusoires sans bolisme.* Dans certaines des solutions essayées, la mort est extrêmement lente. Ainsi, dans la chrysoïdine à $^1/_{500}$, les organismes se colorent en jaune, mais ne lancent jamais de trichocystes; ils ne meurent qu'au bout de vingt-quatre heures, au plus tôt.

Dans le picrate d'ammonium à $^1/_{200}$, la mort survient après une heure environ; tous les trichocystes restent en place sous la membrane.

L'iode dissous dans la solution aqueuse d'iodure de potassium les tue instantanément sans aucun bolisme. On peut, avec l'iode, comme avec l'acide picrique, tuer une moitié de la cellule, sans inquiéter l'autre portion : le bolisme ne se manifeste ni dans la partie iodée, ni dans la partie intacte, ni à la limite entre les deux portions.

⁂

Quel serait, parmi les divers excitants que nous venons de passer en revue, celui qui, dans les conditions ordinaires de la vie, provoque le lancement des trichocystes? C'est sans doute la pression : l'Infusoire, écrasé légèrement au moment où il est saisi par son ennemi, lui décoche ses flèches acérées et lui inflige d'innombrables petites blessures (peut-être venimeuses), qui peuvent fort bien obliger l'ennemi à lâcher sa proie.

⁂

D'après ce que nous venons de voir, il ne semble pas qu'il soit possible d'assigner certains caractères communs aux agents qui mettent en jeu le bolisme.

On serait tenté de supposer que tout ce qui menace la vie de l'individu agit comme excitant pour le lancement des trichocystes. L'expérimentation montre bientôt l'inexactitude de cette idée. Voici quelques faits : La chaleur détermine fatalement la mort, qu'elle soit lente ou qu'elle soit rapide; pourtant, dans le premier cas, elle est inefficace, et dans le second, elle provoque le bolisme. — Parmi les substances chimiques, les unes agissent sur le bolisme, les autres ne font rien, sans que leur efficacité ou leur inactivité soit le moins du monde en relation avec leurs propriétés nocives. — La concentration de la solution tue rapidement les Infusoires, mais ceux-ci ne réagissent jamais.

## II. — MODIFICATEURS DU BOLISME.

Voyons à présent quels sont les changements qui sont apportés au bolisme quand on expose les individus de *Paramaecium* à certains agents extérieurs.

Afin que les résultats soient comparables, il faut employer des Infusoires provenant d'une même culture et déterminer leur irritabilité par un excitant dont l'action est bien connue et nettement définie. Le picro-bleu (1), employé en anatomie végétale, est d'un emploi très commode : l'acide picrique produit tout de suite et sans exception le déchargement de tous les trichocystes; comme l'Infusoire est en même temps tué, les aiguilles s'accumulent autour de lui en une auréole colorée en bleu par la couleur d'aniline. L'observation complète, depuis le moment où l'on fait agir le réactif jusqu'à celui où les trichocystes sont colorés, ne dure pas plus que cinq à sept secondes.

---

(1) Solution saturée d'acide picrique dans l'eau. . 100 parties.
— — de bleu d'aniline dans l'eau . . 4 —

### A. — Agents mécaniques.

Des secousses imprimées au liquide qui contient les *Paramaecium* n'influent pas sur leur bolisme.

Lorsqu'une cellule a été comprimée violemment, jusqu'à la fragmentation, aucune des parties n'est plus à même de lancer ses trichocystes sous l'action du picro-bleu, pas plus celle qui contient le noyau que les autres. Il en est de même dès que la pression a rompu la paroi et produit la sortie d'une quantité, même très minime, de cytoplasme : traitées par le picro-bleu, de telles cellules sont incapables de manifester du bolisme.

### B. — Agents physiques.

#### 1. — *Température.*

a) *Échauffement.* Élevons lentement la température à l'aide d'une platine chauffante. — Jusque vers 30°, on n'observe aucun changement appréciable. — Entre 30° et 35°, les battements ciliaires deviennent plus vifs. La plupart des individus s'attachent par le bout antérieur à des particules solides (par exemple des morceaux de voile bactérien) et les entraînent dans leur natation. En même temps, les mouvements des vésicules contractiles sont également devenus plus rapides : la vésicule réapparaît tout de suite après la systole, de sorte que les deux vésicules se voient toujours simultanément. Le nombre des vésicules pulsatiles est souvent augmenté : dans beaucoup d'individus, on en compte de six à dix, réparties irrégulièrement dans le cytoplasme et ne se distinguant en rien des deux vésicules typiques. — A 37°-38°, les battements des vésicules et des cils se ralentissent.

Les *Paramaecium* n'exécutent plus aucun mouvement de recul, de sorte que ceux qui vont butter contre un fragment de voile bactérien ou qui s'engagent dans une petite fente d'une zooglée, ne se dégagent plus jamais; au lieu de se rejeter en arrière, ils s'obstinent à tourner sur place, sans pouvoir avancer; ils ne s'attachent pas non plus à ce corps solide, comme le font les individus normaux (1) : à la température de 37°-38°, ils ne manifestent plus par aucun mouvement qu'ils sont encore sensibles au contact. D'autre part, ceux qui nagent librement dans le liquide ne sentent plus l'anhydride carbonique auquel ils sont si sensibles à l'état ordinaire (2) : ils ne se rassemblent plus autour des points riches en anhydride carbonique. Au contraire, ils viennent s'accumuler en grand nombre près du bord de la lamelle, au voisinage de l'oxygène. — A 39°-40°, les battements ciliaires s'affaiblissent toujours davantage; bientôt les individus ne se déplacent plus guère; puis les cils ne déterminent plus le moindre courant dans le liquide. Enfin, tout s'arrête, le corps gonfle et l'Infusoire meurt en émettant quelques vacuoles sarcodiques (3).

---

(1) Voir Jennings (**5**).

(2) *Ibidem*.

(3) Les processus que je viens de décrire ne concordent pas avec ceux qu'indique M. Pütter (**10**, p. 258). D'après lui, vers 37°, les individus qui étaient attachés aux corps solides se détachent brusquement et se remettent à nager.

De pareilles contradictions sont fréquentes chez les *Paramaecium*, organisme très variable et dans lequel la moindre modification du milieu extérieur peut amener un changement complet dans la façon de se conduire vis-à-vis des excitants. Les observations de M. Sosnowski (**11**) sont des plus probantes à cet égard : dans certaines cultures, non dans toutes, des secousses rendent positivement géotaxiques des *Paramaecium* qui étaient négativement géotaxiques; parfois c'est une élévation de température qui chez les individus de certains aquariums change le sens du géotaxisme; ailleurs encore, le géotaxisme positif peut être induit par l'addition de petites quantités d'alcalis ou d'acides. Bref, le géotaxisme dépend du caractère personnel des *Paramaecium* et aussi de modifications du milieu. Ce qui est vrai du géotaxisme l'est sans doute aussi d'autres réflexes. Il ne faut donc pas trop s'étonner quand divers observateurs obtiennent des résultats discordants. (Voir aussi plus haut, page 7.)

Nous savons déjà qu'à aucun moment cet échauffement graduel ne détermine le bolisme. Nous venons de voir que vers 37°-38°, les réactions motrices de *Paramaecium* sont presque entièrement soustraites à la sensibilité tactile et à la sensibilité chimique; elles ne s'effectuent plus guère que sous l'action des sensations internes. Mais si le taxisme d'origine externe est en grande partie supprimé, le bolisme reste intact. Le lancement des trichocystes sous l'influence du picro-bleu est aussi rapide et aussi complet que sur des individus normaux. Quant au bolisme dû à la pression, il semble même légèrement augmenté; on a l'impression que les trichocystes sont lancés plus vite, plus loin et en plus grand nombre.

b) *Refroidissement.* Vers 2°, la natation et la pulsation des vésicules sont ralenties, mais elles se font d'une manière régulière. Les réactions tactiles des cils sont conservées. Mais le bolisme est entièrement supprimé : ni le picro-bleu ni la compression ne provoquent plus aucune réaction bolique.

Sur les cellules ainsi tuées et colorées par le picro-bleu, le protoplasme se colore uniformément en jaune, et les petites vacuoles contenant les trichocystes ne prennent pas la moindre teinte bleue, ce qui tend à faire admettre que les trichocystes n'existent pas tout formés dans les vacuoles et que la substance solide qui constitue le trichocyste expulsé (et qui absorbe avidement le bleu d'aniline) est différente de celle qui se trouve dans la vacuole avant le lancement.

⁂

L'ensemble des expériences sur l'effet des changements de température montre qu'on peut, par ce procédé, disséquer l'irritabilité des *Paramaecium,* — tout comme, chez les animaux supérieurs, Claude Bernard disséqua par le curare l'irritabilité de l'appareil neuro-musculaire.

Quand la température s'élève, il vient un moment où l'haptotaxisme (1) disparaît, tandis que l'haptobolisme subsiste, peut-être légèrement renforcé : la sensibilité tactile ne peut plus déterminer que le lancement des trichocystes. D'un autre côté, le chimiobolisme est intact, tandis que le chimiotaxisme ne persiste qu'en partie. Enfin, la chaleur, si elle arrive graduellement, n'aura pas donné de thermobolisme, mais bien du thermotaxisme. (Voir Mendelssohn, **9**.)

Si nous examinons ce qui se passe lors de l'abaissement de la température, nous constatons également que les différents réflexes peuvent être influencés isolément ; c'est comme une marqueterie dont les pièces — intimement unies dans les conditions normales — se mettent à jouer les unes par rapport aux autres dès que la chaleur vient relâcher le cadre.

### 2. — *Pression osmotique.*

Les *Paramaecium* placés dans une solution concentrée ne répondent plus à l'excitation produite par le picro-bleu.

## *C.* — AGENTS CHIMIQUES.

Une anesthésie très manifeste s'obtient par l'éther et par le chloroforme. Le premier s'emploie le mieux en vapeurs; on les fait arriver dans la goutte suspendue où nagent les Infusoires. Quant au chloroforme, il est plus pratique d'en faire une solution dans l'eau; on mélange de petites quantités d'eau chloroformée au liquide qui contient les organismes. Les résultats sont les mêmes pour les deux corps : les *Paramaecium* cessent d'avancer; leurs battements ciliaires ne produisent plus qu'une rotation sur place; le picro-bleu reste sans effet sur les trichocystes.

---

(1) Le terme « haptotropisme » (courbure exécutée sous l'influence d'un contact étant plus ancien que le terme « thigmotropisme », puisqu'il date de 1884 (Errera, **4**, p. 564), tandis que le second date de 1889 (Verworn, **12**), il est logique de l'adopter. Nous dirons donc aussi « haptotaxisme », « haptobolisme », etc.

⁂

Quelle est la partie de l'arc réflexe qui est influencée par les divers modificateurs mécaniques, physiques et chimiques du bolisme? Quand un *Paramaecium* a perdu la faculté de réagir, est-ce la sensibilité qui est atteinte ou bien la réagibilité; a-t-on affaire à de l'anesthésie ou à de la paralysie?

Par analogie avec ce que nous savons des réflexes moteurs, il est permis de supposer que l'éther et le chloroforme agissent sur la partie sensitive de l'arc réflexe. Peut-être est-ce aussi par anesthésie qu'agit le refroidissement.

Chez les cellules écrasées et sur les morceaux détachés du corps, la couche la plus superficielle du cytoplasme — celle qui est sensible — semble tout à fait intacte; l'altération ne porte que sur les parties profondes du cytoplasme. Ici, c'est probablement la seconde moitié de l'arc réflexe qui est atteinte : l'excitation venant de la surface ne parvient plus à déclancher la réaction; il y a paralysie.

Quant aux liquides hypertoniques, la soustraction d'eau qu'ils produisent peut influencer aussi bien la sensibilité que la réagibilité.

## CONCLUSIONS.

1. Le lancement des trichocystes ou *bolisme* de *Paramaecium aurelia* est un réflexe qui est provoqué par beaucoup d'agents mécaniques, physiques et chimiques.

2. Le bolisme est strictement limité aux points qui reçoivent l'excitation externe : il n'y a aucune irradiation du réflexe.

3. Certains agents peuvent affaiblir le réflexe et même l'abolir.

4. Par l'emploi méthodique de la chaleur, on peut disséquer l'irritabilité : tel réflexe sera aboli; tel autre, déterminé pourtant par le même excitant, sera intégralement conservé.

En même temps que la chaleur détruit l'haptotaxisme, elle provoque une excitabilité particulière de l'appareil excréteur, et le nombre des vésicules pulsatiles augmente notablement.

## BIBLIOGRAPHIE.

**1.** O. BÜTSCHLI, *Protozoa* in BRONN'S KLASSEN UND ORDNUNGEN DES THIER-REICHS, Abt. III. *Infusoria*. Leipzig, 1887-1889.

**2.** Y. DELAGE et E. HÉROUARD, *La cellule et les protozoaires,* dans TRAITÉ DE ZOOLOGIE CONCRÈTE. Paris, 1896.

**3.** DU PLESSIS, *De l'action des substances médicamenteuses sur les infusoires.* Lausanne, 1863. (Cité dans WRZESNIOWSKI, **13**.)

**4.** L. ERRERA, *Die grosse Wachsthumsperiode bei den Fruchtträgern von Phycomyces.* (BOT. ZEIT., 1884, S. 497.)

**5.** H.-S. JENNINGS, *Reactions to chemical, osmotic and mechanical Stimuli in the Ciliate Infusoria.* (JOURNAL OF PHYSIOLOGY, vol. XXI, p. 258, 1897.)

**6.** KÖLLIKER, *Icones histiologicae.* (Cité d'après WRZESNIOWSKI, **13**.)

**7.** LUDLOFF, *Untersuchungen über den Galvanotropismus.* (PFLÜGER'S ARCHIV, Bd LIX, S. 525, 1895.)

**8.** E. MAUPAS, *Contribution à l'étude morphologique et anatomique des infusoires ciliés.* [ARCH. ZOOL. EXPÉRIM. ET GÉNÉR. (2), t II, p. 427, 1883.]

**9.** M. MENDELSSOHN, *Ueber den Thermotropismus einzelliger Organismen.* (PFLÜGER'S ARCHIV, Bd LX, S. 1, 1895.)

**10.** A. PÜTTER, *Studien über Thigmotaxis bei Protisten.* (ARCH. FÜR ANAT. UND PHYSIOL., Physiol. Abth. Supplementband, 1900, S. 243.)

**11.** J. SOSNOWSKI, *Untersuchungen über die Veränderungen des Geotropismus bei Paramaecium aurelia.* (BULL. INTERN. DE L'ACAD. DES SCIENCES DE CRACOVIE, mars 1899.)

**12.** M. VERWORN, *Psycho-physiologische Protistenstudien.* Iéna, 1889.

**13.** A. WRZESNIOWSKI, *Ein Beitrag zur Anatomie der Infusorien.* (ARCH. FÜR MIKROSK. ANAT., Bd V, S. 25, 1869.)

# SUR
# LA MYRIOTONIE
## COMME UNITÉ
## DANS LES MESURES OSMOTIQUES

PAR

**L. ERRERA.**

## I

Il y a longtemps que les botanistes se sont occupés d'apprécier avec exactitude la valeur osmotique des solutions, et cette question acquiert aussi une importance de jour en jour croissante en physico-chimie, en physiologie animale, en bactériologie.

La valeur dont il s'agit ici a été exprimée de façons très diverses.

Les données les plus anciennes indiquaient la concentration (en poids) du corps dissous par 100 centimètres cubes de solution. Depuis que de Vries a montré que les corps chimiquement analogues exercent même pression osmotique par molécule dissoute, — qu'ils ont, en un mot, même pouvoir osmotique moléculaire, — on a pris l'habitude

---

(1) Ce travail paraît simultanément ici et dans le *Bull. de l'Acad. roy. de Belgique* (Classe des sciences), n° 3, pp. 135-153, 1901.

d'employer comme *unité de concentration* un nombre de grammes de chaque substance égal à son poids moléculaire. C'est ce que l'on a appelé un « équivalent » ou une « molécule-gramme » de la substance ou, pour nous servir d'un néologisme commode, *une mole* (*).

Mais, pour des corps qui ne sont pas analogues au point de vue chimique, la pression exercée en solution par une mole diffère énormément. On doit à de Vries des comparaisons étendues à cet égard (**). Il établit d'abord que, pour un même corps, la pression osmotique croît proportionnellement à la concentration. Puis, afin de comparer entre eux les divers corps, il choisit comme *unité de pression* le tiers de la pression osmotique d'une molécule de nitrate de potassium et appelle *coefficient isotonique* d'une substance la pression osmotique (ou, comme il disait, l'affinité pour l'eau) qu'elle présente, rapportée à celle d'une solution de salpêtre de même concentration moléculaire. D'après lui, le coefficient isotonique est, pour chaque substance, une constante et, qui plus est, un nombre entier : 3 pour le nitrate de potassium, le chlorure de sodium, etc.; 4 pour le sulfate de potassium; 5 pour le citrate de potassium; 2 pour le sulfate de magnésium, les acides libres, les composés organiques non métalliques; etc.

Cette façon relativement simple de représenter les choses a certes rendu de grands services, et, pendant tout un temps, on s'est ainsi contenté d'exprimer la valeur osmotique d'une solution en indiquant sa concentration en moles par litre et en tenant compte de son coefficient isotonique : c'est ce qu'on appelait sa valeur en salpêtre (*Salpeterwerth*).

---

(*) On peut traduire ainsi (L. ERRERA, *Remarques sur la toxicité moléculaire de quelques alcools,* BULL. DE LA SOC. ROY. DES SCIENCES MÉD. ET NAT. Bruxelles, 1900, p. 25) l'expression « ein Mol » proposée par Ostwald (*Lehrb. d. allgemeinen Chemie,* 2. Aufl., Bd II, II, 1897, S. 212; Cfr. NERNST, *Theoret. Chemie,* 2. Aufl., 1898, S. 43).

(**) H. DE VRIES, *Eine Methode zur Analyse der Turgorkraft*, Pringsh. Jahrb., Bd XIV, 1884, S. 427.

Toutefois, à mesure que les recherches devinrent plus précises et que la physiologie aborda des problèmes osmotiques plus délicats, on dut constater que l'on n'arrivait par cette méthode qu'à une première approximation. La méthode repose, en effet, sur deux suppositions qui ne sont pas tout à fait exactes. D'abord — même pour les solutions étudiées par de Vries — les coefficients isotoniques s'écartent parfois assez notablement des nombres entiers, comme de Vries l'avait déjà reconnu pour certains cas. Ces nombres ronds n'ont pas même le degré de précision des poids atomiques ronds qu'on emploie dans les calculs chimiques approchés. De plus, la pression osmotique n'est pas rigoureusement proportionnelle à la concentration : le coefficient isotonique varie, en réalité, au moins pour les électrolytes (c'est-à-dire les acides, les bases et les sels), avec la teneur du liquide en corps dissous; il augmente ici à mesure que la concentration diminue et il tend vers une limite.

On sait quel merveilleux essor a pris l'étude des solutions depuis que van 't Hoff a assimilé la pression osmotique à la pression gazeuse et qu'Arrhenius y a ajouté la conception féconde de la dissociation électrolytique. Il s'est trouvé que les coefficients isotoniques doivent être proportionnels au facteur *i* introduit par van 't Hoff dans la formule fondamentale des gaz pour la rendre applicable aux solutions salines, et que ce facteur *i* lui-même n'est autre que le coefficient de dissociation électrolytique, c'est-à-dire un coefficient indiquant dans quelle proportion le nombre des molécules dissoutes a augmenté par suite de cette dissociation.

## II

Il résulte nettement de recherches comparatives faites par Fr. Van Rysselberghe à l'Institut botanique de Bruxelles que l'écart entre les coefficients isotoniques constants (qu'on prenne les nombres de de Vries ou ceux que l'on obtient par la détermination du point de congélation) et les coefficients de dissociation électrolytique variables avec la concentration, ne peut être négligé au point de vue physiologique (*) : il convient désormais de substituer ceux-ci à ceux-là dans toute détermination osmotique précise.

Dans son travail, Van Rysselberghe adoptait comme unité osmotique et désignait par le symbole *is* la pression de la solution de salpêtre contenant un millième de mole de $KNO_3$ par litre. Toutes les solutions employées par lui étaient ramenées à cette unité, en tenant compte du poids moléculaire de chaque substance et de son coefficient de dissociation électrolytique à la concentration considérée (**).

A mon avis, il y a lieu de faire un pas de plus. Puisque nous savons maintenant que les corps en solution diluée se comportent tout à fait comme des gaz, pourquoi ne pas exprimer les pressions de la même manière dans les deux cas?

Et quelle est l'unité de pression la plus convenable pour les gaz? On mesure communément leur pression par le poids d'une colonne mercurielle équivalente, ou encore en atmosphères (de 76 centimètres de Hg à 0°, au niveau de la mer). Mais ces unités-là sont arbitraires et, de plus, elles dépendent de la constante $g$ de la gravitation, laquelle varie avec la latitude géographique. La vraie méthode, dès lors, est de recourir aux « unités absolues » de mesure du système CGS.

Dans ce système, l'unité de force est celle qui donne à la masse de 1 gramme une accélération de 1 centimètre par seconde : on lui a donné le nom de *dyne*. L'unité de pression ou d'effort sera donc la pression de l'unité de force par unité de surface, soit celle de 1 dyne par centimètre carré. Je propose de l'appeler *tonie* (de τόνος, effort, tension), avec ses sous-multiples et multiples : *décitonie, décatonie, kilotonie, myriotonie* (10000 tonies), *mégatonie* (1 million de tonies), etc.

---

(*) Voy. Fr. Van Rysselberghe, *Réaction osmotique des cellules végétales à la concentration du milieu.* (Mémoires couronnés publiés par l'Acad. roy. de Belgique, t. LVIII, 1899, ou Recueil de l'Institut botanique de Bruxelles, t. IV; et mon Rapport sur ce mémoire, *Bull. de l'Acad. roy. de Belgique*, janvier 1898.)

(**) Fr. Van Rysselberghe, *Loc. cit.*, p. 32 du tiré à part.

Il est aisé de calculer la relation entre la *tonie* et l'*atmosphère moyenne* (c'est-à-dire celle qui répond à la latitude de 45°).

Une colonne de mercure de 76 centimètres de haut et de 1 centimètre carré de base, à la température de 0°, sous la latitude de 45°, au niveau de la mer, exerce une pression égale à 76 × densité du mercure à 0° × constante de la gravitation pour 45°, soit

$$\left.\begin{aligned} 76 \times 13{,}5956\,(^{*}) \times 980{,}635\,(^{**}) &= 1013256 \text{ tonies} \\ &= 101{,}3256 \text{ myriotonies} = 1{,}013256 \text{ mégatonies.} \end{aligned}\right\} \quad . \quad . \quad . \quad (1)$$

On voit par là que l'atmosphère est très peu supérieure à une mégatonie (c'est-à-dire à la pression de 1 million de dynes par centimètre carré) ou que la myriotonie équivaut grossièrement à $^1/_{100}$ d'atmosphère.

Que devient avec cette unité la constante R de l'équation fondamentale des gaz : $pv = \mathrm{RT}$, où $p$ est, comme on sait, la pression en atmosphères, $v$ le volume en litres occupé par une mole, T la température comptée à partir du zéro absolu et R une constante? Suivant les déterminations de Regnault et d'autres, une mole des gaz parfaits, quand elle occupe l'espace de 1 litre, exerce à 0° C. une pression de 22,42 atmosphères moyennes (***). L'équation

$$p_{\text{atm.}}\, v_{\text{lit.}} = \mathrm{RT} \quad . \quad . \quad . \quad . \quad . \quad . \quad . \quad . \quad . \quad (2)$$

devient, dans ces conditions,

$$22{,}42 \text{ atm.} \times 1 \text{ litre} = \mathrm{R} \times 273,$$

---

(*) EVERETT, *Physikalische Einheiten und Constanten*, trad. all. Leipzig, 1888, S. 32.

(**) *Ibid.*, S. 19.

(***) Cf. NERNST, *Theoret. Chemie*, 2. Aufl., 1898, S. 43. — C'est sans doute par suite d'un lapsus que Nernst, *Op. cit.*, S. 44, a écrit 760 au lieu de 76 dans le calcul de la valeur de l'atmosphère en unités absolues.

d'où

$$R = \frac{22,42}{273} = 0,08212.$$

Dans le système CGS, $p$ doit être exprimé, non en atmosphères, mais en tonies ou, si l'on veut éviter de grands nombres fastidieux, en *myriotonies* — que l'on pourrait représenter par le symbole $\overset{\tau}{M}$ (formé d'un M majuscule surmonté d'un $\tau$ grec). Les volumes $v$ peuvent continuer à être comptés en *litres*, qui sont des multiples de l'unité fondamentale, le centimètre cube; et T conserve sa signification.

La relation entre la valeur de $p$ en atmosphères et celle en myriotonies est, d'après (1) :

$$p_{\text{atm.}} = \frac{p_{\overset{\tau}{M}}}{101,3256};$$

substituant dans (2) :

$$\frac{p_{\overset{\tau}{M}} \cdot v_{\text{lit.}}}{101,3256} = RT = 0,08212\,T$$

$$p_{\overset{\tau}{M}} \cdot v_{\text{lit.}} = 0,08212 \times 101,3256\,T = 8,32\,T \;.\;\;.\;\;.$$

Si le volume $v$, au lieu de renfermer une mole de gaz, en renferme $n$, l'équation fondamentale devient, comme on sait :

$$pv = nRT;$$

soit, dans le cas actuel :

$$p_{\overset{\tau}{M}} \cdot v_{\text{lit.}} = 8,32 . nT.$$

## III

D'après la proposition que j'ai faite il y a déjà quelques années (*), il s'agirait d'adopter aussi pour les solutions cette unité rationnelle. L'équation $pv = i\mathrm{RT}$ devient dès lors :

$$p_{\frac{\mathrm{T}}{\mathrm{M}}} \cdot v_{\mathrm{lit.}} = 8{,}32\, i\mathrm{T} \quad . \quad . \quad . \quad . \quad . \quad . \quad . \quad . \quad (4)$$

où, je le répète, $p$ est la pression osmotique (en myriotonies) de la solution, $v$ le volume (en litres) qui y est occupé par une mole du corps dissous, $i$ le coefficient de dissociation électrolytique de ce corps dans les conditions considérées et T la température comptée à partir de — 273° C.

Calculons, par cette relation, *la concentration de la solution de* $\mathrm{KNO_3}$ *pur qui donne, à 18° C., la pression de 1 myriotonie*. Posons donc dans (4) :

$$p = 1, \quad \mathrm{T} = 273 + 18 = 291;$$

pour les solutions très diluées dont il s'agit ici, la dissociation du nitrate de potassium est presque complète, c'est-à-dire que $i$ est presque $= 2$. Prenant cette valeur, on a :

$$v_{\mathrm{lit.}} = 8{,}32 \times 2 \times 291 = 4842^{\mathrm{l}}{,}24.$$

Si maintenant on remplace $i$ par sa valeur plus exacte qui, pour la dilution considérée, est 1,986 (voir tableau plus loin), on calcule :

$$v_{\mathrm{lit.}} = 8{,}32 \times 1{,}986 \times 291 = 4808^{\mathrm{l}}{,}34.$$

On peut donc poser très sensiblement :

$$\mathbf{v_{lit.} = 4810\ litres;}$$

---

(*) L. ERRERA, *On the unit to be adopted for osmotic measurements*, BRITISH ASSOCIATION, Report, 1898, p. 1068; et ANNALS OF BOTANY, Dec. 1898, p. 569.

c'est-à-dire que *la solution de 1 mole de* $KNO_3$ (= 101$^{gr}$,19) (*) *dans 4810 litres d'eau exerce, à 18° C., la pression osmotique de 1 myriotonie.* Si l'on désigne par $c$ la *concentration moléculaire* (nombre de moles par litre), $c = \frac{1}{v}$, et notre solution a une concentration :

$$c = \frac{1}{4810} = 0{,}0002079 \text{ mole par litre,}$$

c'est-à-dire à peine plus de $^2/_{10000}$ de mole par litre ou 2 dix-millioniémes de mole par centimètre cube.

Pour effectuer les calculs de ce genre, il suffit donc de connaître la concentration en moles $c = \frac{1}{v}$ et le coefficient de dissociation de la substance dans les conditions données, $i$.

Voici, à titre d'indication, les valeurs de $i$ (pour des solutions aqueuses de KCl et de $KNO_3$ à 18° C.) que j'ai calculées d'après les conductibilités moléculaires. On sait comment s'effectue ce calcul fort simple. Désignant par $\alpha$ le *degré de dissociation,* c'est-à-dire la proportion de molécules dissociées sur le nombre primitif total de molécules et par $n$ le nombre d'ions que chaque molécule donne par sa dissociation électrolytique, on a la relation connue :

$$i = 1 + (n - 1)\alpha \quad . \; . \; . \; . \; . \; . \; . \; . \; . \quad (5)$$

Quant à $\alpha$, sa valeur est fournie par le rapport entre la conductibilité moléculaire $\lambda$ pour la concentration donnée et la limite $\lambda_\infty$ vers laquelle tend cette conductibilité pour des dilutions de plus en plus grandes :

$$\alpha = \frac{\lambda}{\lambda_\infty} \quad . \; . \; . \; . \; . \; . \; . \; . \; . \; . \; . \quad (6)$$

Les valeurs de $\lambda$ se trouvent dans les tables de Kohlrausch et

---

(*) En prenant les « poids atomiques internationaux » pour 1901 de la Commission des poids atomiques de la *Deutsche chemische Gesellschaft.*

Holborn (*) ; celles de $\lambda_\infty$ peuvent s'obtenir par l'addition des vitesses du cation et de l'anion considérés :

$$\lambda_\infty = l_c + l_a \quad . \quad . \quad . \quad . \quad . \quad . \quad . \quad . \quad . \quad . \quad (7)$$

Les tables précitées (**) indiquent, par exemple, pour le cation K, à 18°, à une dilution infinie :

$$l_c = 65{,}5;$$

pour l'anion $NO_3$,

$$l_a = 60{,}8;$$

d'où

$$\lambda_\infty = 65{,}5 + 60{,}8 = 126{,}1.$$

Pour la conductibilité moléculaire de $KNO_3$, à la concentration 0,0002, à 18° C., les tables donnent :

$$\lambda = 124{,}3.$$

Il en résulte :

$$\alpha = \frac{\lambda}{\lambda_\infty} = 0{,}986$$

et, comme $n = 2$ pour le nitrate de potassium :

$$i = 1 + \alpha = 1{,}986.$$

C'est ainsi qu'ont été obtenues toutes les valeurs de $i$ de notre tableau ; elles figurent dans la troisième colonne. La première indique la concentration $c$ en moles par litre ; la seconde, le volume $v$ en litres occupé par 1 mole ; enfin, dans la dernière colonne sont inscrits les produits $i \times c$ dont il sera question plus loin. On remarque que, pour les solutions diluées, les deux sels ont sensiblement mêmes valeurs de $i$ ; et il en est ainsi pour les autres sels formés de radicaux

---

(*) F. KOHLRAUSCH und L. HOLBORN, *Leitvermögen der Elektrolyte*, 1898, Tabelle 2, S. 159.

(**) *Ibid.*, Tabelle 8, S. 200.

univalents, tels que $NaNO_3$, NaCl, acétate d'ammonium, etc. Mais à mesure que la concentration s'élève, les choses se compliquent, les écarts s'accentuent de plus en plus, et les valeurs de *i* ne doivent être employées qu'avec précaution.

*Valeurs du coefficient* i *pour* KCl *et* $KNO_3$
*en solution aqueuse à* 18° C.

| Concentration en moles par litre : *c*. | VOLUME en litres occupé par 1 mole : *v*. | COEFFICIENT de dissociation électrolytique : $i = 1 + \alpha$. | | PRODUIT $i \times c$ | |
|---|---|---|---|---|---|
| | | KCl (1 mole = 74gr,60). | $KNO_3$ (1 mole = 101gr,19). | pour KCl. | pour $KNO_3$. |
| 3 | 0,33 | 1,673 | 1,486 | 5,019 | 4,458 |
| 2 | 0,5 | 1,706 | 1,550 | 3,412 | 3,100 |
| 1 | 1 | 1,748 | 1,638 | 1,748 | 1,638 |
| 0,5 | 2 | 1,780 | 1,711 | 0,890 | 0,855 |
| 0,1 | 10 | 1,853 | 1,828 | 0,185 | 0,183 |
| 0,05 | 20 | 1,883 | 1,872 | 0,094 | 0,094 |
| 0,03 | 33,3 | 1,902 | 1,896 | 0,057 | 0,057 |
| 0,01 | 100 | 1,934 | 1,937 | 0,019 | 0,019 |
| 0,005 | 200 | 1,950 | 1,952 | 0,010 | 0,010 |
| 0,002 | 500 | 1,965 | 1,967 | 0,004 | 0,004 |
| 0,001 | 1000 | 1,973 | 1,975 | 0,002 | 0,002 |
| 0,0005 | 2000 | 1,978 | 1,980 | 0,001 | 0,001 |
| 0,0002 | 5000 | 1,984 | 1,986 | 0,0004 | 0,0004 |
| 0,0001 | 10000 | 1,987 | 1,989 | 0,0002 | 0,0002 |
| $\frac{1}{\infty}$ | $\infty$ | 2 | 2 | 0 | 0 |

## IV

Les indications précédentes suffisent à résoudre sans grande peine les problèmes osmotiques qui se présentent habituellement en physiologie. Il ne sera pas inutile de le montrer rapidement, surtout à l'intention des physiologistes qui pourraient redouter la complication des calculs.

Les problèmes dont il s'agit peuvent se ramener à trois principaux :

1° *Connaissant la concentration* c *en moles par litre de la solution aqueuse d'une substance donnée, à une température donnée, en indiquer la pression osmotique en myriotonies.*

De

$$p_{\frac{\tau}{\mathrm{M}}} v_{\mathrm{lit.}} = 8{,}32 . \mathrm{T} . i$$

et

$$v = \frac{1}{c},$$

on tire :

$$p_{\frac{\tau}{\mathrm{M}}} = 8{,}32 . \mathrm{T} . i . c \quad . \quad . \quad . \quad . \quad . \quad . \quad . \quad . \quad . \qquad (7)$$

*Exemple :* Quelle est la pression exercée, à 18°, par une solution de 0,1 mole $KNO_3$, soit $10^{\mathrm{gr}},119$ par litre (ou environ 1 %)?

Réponse :

$$p_{\frac{\tau}{\mathrm{M}}} = 8{,}32 \times 291 \times 1{,}83 \times 0{,}1 = 445^{\tau}_{\mathrm{M}}{,}06.$$

Si l'on désire transformer les myriotonies en atmosphères, on obtient, comme nous savons, un résultat approché en divisant simplement par 100 — soit 4,4 atmosphères — et un résultat exact en divisant [voir équation (1)] par 101,33 ou, ce qui revient au même, en multipliant par 0,00987 : ce qui donne 4,37 atmosphères.

D'ordinaire, on attribue à la solution de 1,01 % de salpêtre une pression osmotique sensiblement moindre : 3,7 atmosphères seulement. Mais, dans les déterminations faites jusqu'ici, cette solution n'a probablement pas pu manifester la plénitude de sa pression osmotique, car les parois semi-perméables employées laissaient sans doute passer au moins quelques traces de salpêtre.

2° Réciproquement, *calculer la concentration qu'il faut donner à la solution aqueuse d'une substance donnée, à une température donnée, pour qu'elle exerce telle pression osmotique.*

Des égalités ci-dessus, on tire :

$$v = \frac{8{,}32\,T.i}{p} \qquad \text{ou} \qquad c = \frac{p}{8{,}32.T.i} \quad . \quad . \quad . \quad (8) \text{ et } (9)$$

Comme on ne connaît ni la concentration ni le coefficient $i$ correspondant, il faudrait commencer par résoudre approximativement, trouver ainsi une valeur approchée de $i$, et calculer $c$ ou $v$; par tâtonnements successifs, on arriverait à une exactitude aussi grande qu'on le voudrait. Mais il est plus commode de prendre pour inconnue le produit $ic$ :

$$ic = \frac{i}{v} = \frac{p}{8{,}32\,T} \quad . \quad . \quad . \quad . \quad . \quad . \quad . \quad . \quad . \quad (10)$$

et, celui-ci trouvé, de recourir à un tableau tel que celui de la page 146, qui donnera alors la valeur correspondante de $i$; une simple division permettra d'en déduire $c$.

*Exemple :* Quelle est la solution de KCl ou de $KNO_3$ qui exerce, à 18°, la pression de 100 myriotonies?

Réponse :

$$ic = \frac{p}{8{,}32T} = \frac{100}{2421{,}12} = 0{,}0413.$$

Cette valeur de $ic$ est comprise entre 0,019 et 0,037 de la dernière colonne du tableau (p. 202), ce qui répond, pour le chlorure de potassium, à

$$i = 1{,}92;$$

d'où

$$c = \frac{0,0413}{1,92} = 0,02151 \text{ mole};$$

et

$$v = \frac{1}{c} = \frac{1}{0,0215} = 46^{l},5;$$

et de même pour le nitrate de potassium.

C'est ainsi qu'a été obtenu le tableau suivant (les nombres y sont un peu arrondis, vu l'incertitude des dernières décimales de $i$) :

| PRESSIONS osmotiques en myriotonies : $p_{\overset{\mathrm{T.}}{\mathrm{M}}}$ | CONCENTRATION $c$ en moles par litre de la solution aqueuse | | VOLUME $v$ en litres occupé par une mole | |
|---|---|---|---|---|
| | de KCl à 18° C. | de $KNO_3$ à 18° C. | de KCl à 18° C. | de $KNO_3$ à 18° C. |
| 1 | 0,0002086 | 0,0002075 | 4800 | 4810 |
| 10 | 0,002107 | 0,002096 | 475 | 477 |
| 100<br>(=environ 1 atm.) | 0,02151 | 0,02151 | 46,5 | 46,5 |
| 1000 | 0,2257 | 0,2307 | 4,43 | 4,33 |
| 10000 | 2,4438 | 2,7533 | 0,41 | 0,36 |

5° *Une solution étant donnée, déterminer la concentration d'une solution d'un autre corps, qui soit isotonique avec la première, à même température.*

Appelant $i$ et $c$, $i'$ et $c'$, respectivement, le coefficient de dissociation électrolytique et la concentration en moles par litre des deux solutions, on doit avoir, en cas d'isotonisme :

$$ic = i'c' \quad \ldots\ldots\ldots\ldots \quad (11)$$

Si l'on a, pour les deux substances, un tableau tel que celui de la page 202, le problème est tout résolu. Sinon, il faut procéder par approximations.

*Exemple* : Quelle est la solution de $K_2SO_4$ isotonique avec celle de $KNO_3$ de 0,1 mole par litre?

Pour cette solution de $KNO_3$, on voit, par le tableau de la page 202, que $ic = 0,183$. On sait, par les coefficients isotoniques de de Vries, que $i'$ chez $K_2SO_4$ est, en première approximation, égal aux $^4/_3$ de $i$ chez $KNO_3$; donc $c'$ est voisin de $^3/_4\ c$, c'est-à-dire de 0,075. Cherchons maintenant plus exactement, pour $K_2SO_4$, le degré de dissociation $\alpha'$ aux environs de cette concentration. D'après les tables déjà citées de Kohlrausch et Holborn, p. 200, on a pour $^1/_2$ molécule $K_2SO_4$ à 18° C. :

$$\lambda'_\infty = l'_c + l'_a = 65,3 + 69,7 = 135,0;$$

tandis que $\lambda'$ à 18° pour $c' = 0,075$ est compris (*ibid.*, p. 159) entre 95,9 pour $c' = 0,1$, et 102,5 pour $c' = 0,05$; on peut prendre sans trop d'erreur la moyenne arithmétique, soit 99,2 (*). D'où

$$\alpha' = \frac{\lambda'}{\lambda'_\infty} = \frac{99,2}{135} = 0,735.$$

Comme, en outre, pour les sels du type $K_2SO_4$, $n' = 3$, l'équation (5) donne :

$$i' = 1 + 2\alpha' = 1 + 1,47 = 2,47.$$

Enfin,

$$c' = \frac{ic}{i'} = \frac{0,183}{2,47} = 0,0741;$$

---

(*) Il serait naturellement plus correct, mais notablement plus long, de procéder par interpolation graphique.

c'est-à-dire que la solution de $K_2SO_4$ de 0,0741 mole par litre est isotonique avec celle de $KNO_3$ de 0,1 mole par litre.

En cherchant maintenant, par interpolation, la valeur de $i'$ pour cette concentration, on obtiendrait, si cela en valait la peine, une approximation encore plus grande.

Si les concentrations, au lieu d'être indiquées en moles par litre, le sont en grammes, le calcul n'est qu'un peu plus compliqué. Soient deux solutions titrant respectivement $a$ et $a'$ grammes °/₀, — c'est-à-dire 10 $a$ et 10 $a'$ grammes par litre, — la première renfermant un corps dont le poids moléculaire est M et le coefficient de dissociation électrolytique dans les conditions considérées $i$; les quantités correspondantes étant M' et $i'$ pour le second corps, quelle est la relation qui doit exister pour que les deux solutions soient isotoniques?

Les concentrations en moles par litre sont dans ce cas :

$$\frac{10a}{M} \quad \text{et} \quad \frac{10a'}{M'}.$$

Substituant ces valeurs à $c$ et $c'$ dans l'égalité (11), on a :

$$\frac{10a}{M} i = \frac{10a'}{M'} i',$$

d'où

$$aiM' = a'i'M. \qquad (12)$$

*Exemple* : Quelle est la solution de NaCl isotonique avec celle de $KNO_3$ à 2 °/₀?

Une solution de 2 °/₀ de $KNO_3$ répond à $\frac{20}{101,19}$ moles, soit environ 0,2 mole par litre. A cette concentration, d'après le tableau de la page 202, $i = 1,80$ environ; et d'après Kohlrausch et Holborn, à la même concentration moléculaire, pour le NaCl,

$$i' = 1 + \frac{88,2}{110,3} = 1,80$$

comme pour le $KNO_3$.

Donc, d'après (12) :

$$2 \times 1{,}80 \times 58{,}5 = a' \times 1{,}80 \times 101{,}19$$

$$a' = \frac{2 \times 58{,}5}{101{,}19} = 1{,}156\,\%.$$

## V.

Voici la conclusion qui nous paraît se dégager de cette étude :

Il convient d'exprimer les pressions osmotiques et les pressions gazeuses en fonction d'une même unité rationnelle. L' « atmosphère » étant une unité arbitraire et qui, de plus, n'est pas fixe, il y a lieu de recourir au système des mesures absolues CGS et de prendre pour unité de pression ou d'effort la *myriotonie* ($\overset{\tau}{M}$), c'est-à-dire la pression de dix mille dynes par centimètre carré de surface, la dyne étant, comme on sait, la force qui imprime à la masse de 1 gramme une accélération de 1 centimètre par seconde.

La myriotonie correspond grossièrement à $^1/_{100}$ d'atmosphère. Elle est d'un ordre de grandeur très convenable pour les mesures et les calculs, tant de pression gazeuse que de pression osmotique.

Avec cette unité, l'équation fondamentale $pv = i\,\mathrm{RT}$ devient :

$$p_{\overset{\tau}{M}} v_{\text{lit.}} = 8{,}52\, i\mathrm{T}.$$

Bruxelles, Institut botanique, février 1901.

# INFLUENCE DE LA TEMPÉRATURE
SUR
# LA PERMÉABILITÉ DU PROTOPLASME VIVANT
POUR
# L'EAU ET LES SUBSTANCES DISSOUTES

PAR

**Fr. VAN RYSSELBERGHE**
Docteur en sciences naturelles (1).

## INTRODUCTION.

Jusqu'à la publication du travail de Krabbe (2), lequel constitue l'unique étude spéciale concernant l'influence de la température sur la perméabilité du protoplasme vivant, nos connaissances sur cette question se réduisaient presque exclusivement à quelques faits éparpillés dans la littérature botanique et acquis plutôt comme résultats accessoires d'expériences sur l'absorption d'eau par les racines, la transpiration, les « pleurs » des végétaux, autant de phénomènes dans lesquels la pression osmotique intervient comme facteur essentiel.

Depuis les recherches de Sachs, il était connu que l'absorption d'eau par les poils radicaux est favorisée ou déprimée, suivant que la température du sol augmente ou diminue ; que le Tabac et la Courge, par exemple (Sachs, p. 125), se fanent lorsque leurs parties souterraines se trouvent refroidies entre + 2° et + 4° C., tandis qu'ils redeviennent turgescents après réchauffement de la terre.

---

(1) Ce Mémoire a été couronné au concours universitaire, en 1899 (Groupe botanique). Il paraît simultanément ici et dans les *Bulletins de l'Académie royale de Belgique* (Classe des sciences), n° 3, pp. 173-221, 1901.

(2) Pour la bibliographie, voir la fin du travail.

Les racines des plantes cultivées dans l'eau absorbent aussi une quantité de liquide d'autant plus grande que le milieu est plus chaud. C'est ce qui résulte des expériences de Vesque (pp. 189, 194) qui opéra même à 0° sans que l'absorption d'eau devînt nulle. Kohl (p. 115) et Eberdt (p. 42) arrivèrent à des résultats analogues.

A — 5°, Dixon et Joly (p. 116) aperçurent encore un mouvement continuel d'eau dans les trachées de quelques plantes, ce qui doit faire admettre que, même à cette température, la faculté d'absorption des racines n'est pas annihilée. Est-il dès lors rationnel d'admettre l'opinion exprimée par certains botanistes, tels que Schwendener (p. 945) et Wieler (p. 65), d'après laquelle toute absorption d'eau cesserait à 0°?

Les expériences de Kosaroff, d'après lesquelles les racines de *Pisum sativum* et de *Phaseolus multiflorus* soustraient encore une quantité notable d'eau à un milieu qui se trouve à 0° (p. 14), et celles de *Chrysanthemum indicum* et de *Sinapis alba,* à un sol congelé dont la température descend de plusieurs degrés sous 0 (pp. 23, 25), démontrent aussi que cette opinion n'est pas fondée.

La quantité d'eau absorbée aux températures basses est, certes, de beaucoup inférieure à ce qu'elle est dans les conditions ordinaires. Elle peut être très réduite, même assez faible pour ne plus suffire aux besoins du végétal. C'est ce que montrent déjà les plus anciennes observations relatives au sujet qui nous occupe : celles de Birklander (voir Göppert, p. 124), datant de 1778, et celles de Hardy (cité dans Kosaroff, p. 8), faites cinquante années plus tard. Ces deux auteurs citent une série de plantes qui périssent, faute d'eau, quand la température du sol descend entre 1° et 2° au-dessous de 0.

De ces faits se rapprochent les expériences de Kihlman (p. 89) qui, dans le but de trouver une explication de certaines particularités offertes par la flore des toundras, refroidit les racines de la plantule de *Cucurbita Pepo* à 0°, tandis que les parties aériennes reçurent les rayons directs du soleil. Après quelques heures, le bourgeon fut totalement fané. Au contraire, dans une expérience de contrôle où les racines se trouvaient à une température plus élevée, la plantule conserva toute sa turgescence. L'exemplaire fané reprit sa fraîcheur après arrosage du sol avec de l'eau entre 14° et 25°.

C'est souvent à une cause semblable qu'est dû, en hiver, le dépérissement de certains végétaux qui ne peuvent prendre, au sol congelé, assez d'eau pour compenser la déperdition subie par la transpiration des parties aériennes. Aussi les plantes des contrées polaires, malgré la grande richesse du sol en eau, présentent-elles fréquemment des particularités de structure propres à les protéger contre une trop forte transpiration (Kihlman, p. 104; Stenström, p. 155).

De même que pour l'osmose, la température agit aussi sur les phénomènes d'imbibition. Dimitrievicz (Pfeffer, 1897, p. 212) a constaté, en effet, que le gonflement de graines dans l'eau se produit d'autant plus lentement que celle-ci est plus froide.

Si l'absorption d'eau par les cellules dépend de la température, il en est de même de la déperdition de liquide qu'elles subissent par la transpiration. Et ce n'est pas là une conséquence des lois du phénomène purement physique de l'évaporation. Burgerstein (voir Pfeffer, 1897, p. 228) constata, en effet, une transpiration encore notable chez des branches de *Taxus baccata* tenues à — 10°,7, et Wiesner, de même que Pacher (ibid.), sur des rameaux de Marronnier dépourvus de feuilles, maintenus à une température variant entre 0° et — 15°.

La persistance de la transpiration durant l'hiver fut mise en évidence, notamment par Hales (p. 29) et Duhamel (I, p. 337), sur des espèces toujours vertes.

Le fait que des feuilles se développent sur des rameaux qui se trouvent, l'hiver, dans une serre, tandis que le reste de la plante séjourne à l'air libre, démontre, une fois de plus que, malgré une température basse du sol, une assez forte quantité d'eau est puisée par les racines et est capable d'être conduite à travers toute la tige. C'est là une expérience qui a été faite à diverses reprises, entre autres par Knight et Treviranus (p. 120) sur la Vigne, par Senebier (IV, p. 124) sur le Rosier, par de Candolle (I, p. 426) et Mustel (cité dans de Candolle, ibid.) sur plusieurs autres plantes.

On a méconnu l'influence de la température sur les « pleurs » du bois jusqu'à l'époque où Hofmeister et Baranetzky démontrèrent qu'il existe bien, entre l'agent extérieur et l'intensité du phénomène, un rapport certain. Beaucoup de plantes « pleurent » à 0° (Pfeffer, 1897, p. 245). D'après Wieler cependant (p. 59), *Ricinus communis* ne présente pas le phénomène de la guttation à une température inférieure à + 5°, tandis que chez *Juglans* la poussée radiculaire se manifeste à 0° (p. 57), chez *Vitis vinifera* entre 0 et + 1° (p. 58); chez *Acer platanoides* elle ne se produirait qu'exceptionnellement à + 5° (p. 59). Hofmeister vit le phénomène se continuer chez la Vigne entre — 1° et + 3°,5, Nördlinger, chez l'Érable pendant tout un hiver, Schröder, chez le Bouleau entre 1° et 3° et chez l'Érable à — 10°,7.

*Cucurbita Pepo,* suivant Detmer (1874, 1887), ne « pleure » pas lorsque la température est inférieure à 7°-9° ou supérieure à 45°. Le phénomène ne se manifesterait plus à 31°-32° chez *Begonia incarnata.* Le même auteur constata un accroissement notable dans le volume de liquide émis par *Prostanthera* lorsque la température du sol, qui était d'abord de 21°,5, s'accrut de 2°,5. Un nouvel accroissement de la température de 3°,5 fut encore accompagné d'une augmentation dans la quantité de liquide mis en liberté. Brosig mentionne des observations analogues faites sur *Achyranthes Verschaffelti.*

Quelques travaux traitant plus spécialement d'osmose et de perméabilité contiennent certaines données assez vagues relatives à l'influence de la température sur le passage, au travers du protoplasme, de l'eau et des substances dissoutes.

Pfeffer, dans son travail sur la perméabilité du protoplasme pour certaines couleurs d'aniline, relate des expériences (p. 283) prouvant que chez *Spirogyra* et les cellules des racines de *Lemna,* d'*Azolla* et de *Trianea,* le bleu de méthylène met beaucoup plus de temps à s'accumuler dans le suc à 0° qu'à la température ordinaire et qu'à 43° la pénétration est notablement accélérée.

Janse (p. 370) constata, sur les cellules de *Spirogyra* notamment, que la plasmolyse se produit d'autant plus rapidement que la température des solutions plasmolysantes est plus élevée et (p. 367) que l'élévation de la température de la solution a aussi pour effet d'accélérer la disparition de la plasmolyse, donc la pénétration dans la cellule des substances dissoutes. Nous avons, dans notre travail sur la *réaction osmotique des cellules*, relaté des observations analogues faites sur les cellules épidermiques de la feuille de *Tradescantia discolor* (1888, p. 9; 1899, p. 62).

Le raccourcissement de cylindres découpés dans la moelle d'*Helianthus* et de *Sambucus* se produit aussi d'autant plus rapidement dans des solutions plasmolysantes que celles-ci sont plus chaudes (Kolkwitz, p. 10).

Là se bornaient, à peu de chose près, nos connaissances relatives à l'influence de la température sur la perméabilité du protoplasme vivant, lorsque parut le travail de Krabbe. Dans une première partie de son mémoire, l'auteur rapporte les résultats fournis par des expériences concernant la perméabilité du protoplasme pour l'eau. Il opéra sur la moelle d'*Helianthus annuus,* ainsi que sur des racines de *Vicia Faba* et de *Phaseolus multiflorus* et constata que le raccourcissement de ces matériaux dans des solutions plasmolysantes de saccharose, de même que leur allongement dans l'eau, était cinq à huit fois plus rapide lorsque ces milieux avaient une température de 20° à 25° que s'ils étaient refroidis entre 0° et + 5°.

Dans une deuxième partie de son travail, l'auteur s'occupe de la cause de cette différence de perméabilité du protoplasme pour l'eau à différentes températures et, à la suite de considérations purement théoriques, il arrive à attribuer au protoplasme la propriété de changer, suivant la température, la grandeur de ses mailles, de façon à faciliter ou à entraver le passage du liquide. Les substances dissoutes ne passeraient au travers du protoplasme qu'à partir d'une température supérieure à + 5° (p. 485).

Dans une troisième et dernière partie du mémoire, Krabbe étudie l'influence qu'exerce la constitution physique du protoplasme, variable avec la température, sur la valeur du pouvoir osmotique cellulaire. Pour l'auteur, la force de filtration et la force osmotique doivent posséder, dans chaque cas, une valeur minimum pour pouvoir mettre en mouvement l'eau qui se trouve à l'état de repos dans les interstices du protoplasme (p. 488), pour vaincre la résistance qu'opposent à ce mouvement les mailles protoplasmiques. Là où ce minimum n'est pas atteint, il n'y aurait pas de mouvement d'eau. Là aussi, le pouvoir osmotique cellulaire n'atteindrait pas sa valeur maximum : il resterait d'autant plus en dessous de celle-ci qu'il y a plus de résistance à vaincre lors d'un mouvement unilatéral d'eau. Deux cellules d'un même volume vacuolaire, avec un suc cellulaire identique, tant au point de vue qualitatif qu'au point de vue quantitatif, pourraient, dès lors, posséder des pouvoirs osmotiques différents (p. 489) par suite de l'obstacle inégal opposé par leurs mailles protoplasmiques. Ces considérations sont appuyées d'une expérience dont le résultat, suivant l'auteur, serait tout en faveur de sa théorie. Nous en parlerons en temps et lieu.

Vu l'importance du sujet, nous avons, sur le conseil de M. le professeur Pfeffer et dans son Institut de Leipzig, cherché à élucider les questions suivantes :

Dans quelle mesure varie, suivant la température, la perméabilité du protoplasme pour l'eau et quelle est l'allure générale du phénomène?

Jusqu'à quel degré la perméabilité du protoplasme pour les substances dissoutes est-elle sous la dépendance de la température et ne se manifeste-t-elle effectivement pas aux températures inférieures à + 5°, comme Krabbe l'admet?

Les variations de la perméabilité, d'après la température, ne peuvent-elles s'interpréter que par une intervention physiologique du protoplasme vivant ou sont-elles explicables par des facteurs purement physiques?

L'expérience confirme-t-elle l'idée de Krabbe d'après laquelle un minimum de filtration ou de force osmotique serait nécessaire pour amener un courant d'eau au travers du protoplasme, ou bien démontre-t-elle que dans le protoplasme, tout comme dans une membrane précipitée de ferrocyanure de cuivre, « es keine Grenze des Filtrationswiderstandes giebt » (Pfeffer, 1877, p. 71)?

Le pouvoir osmotique cellulaire, abstraction faite de l'influence de la température sur la pression des solutions, diffère-t-il, aux températures ordinaires, de ce qu'il est à 0°, température où, d'après Krabbe, la résistance à la filtration atteint son maximum?

## CHAPITRE PREMIER.

### Perméabilité du protoplasme vivant à différentes températures.

### § 1. — Perméabilité pour l'eau.

Dans ces premières recherches, nous nous sommes servi de quatre méthodes qui consistent à :

*A.* — Comparer, aux différentes températures, le raccourcissement que subit un tissu dans des solutions plasmolysantes.

*B.* — Déterminer, au contraire, l'allongement d'un tissu plasmolysé, par suite de l'absorption d'eau portée aux températures voulues.

*C.* — Observer, sur les cellules mêmes, la rapidité de la sortie de l'eau en les soumettant à la plasmolyse.

*D.* — Évaluer la rapidité avec laquelle l'eau pénètre dans ces mêmes cellules plasmolysées.

### A. — *Méthode du raccourcissement d'un tissu dans une solution plasmolysante.*

Pour les deux premières séries d'expériences, nous nous servions de moelle de *Sambucus nigra* prise à des rameaux jeunes d'un développement aussi uniforme que possible, et toujours sur le même sujet. Elle fut dépourvue de toute trace de bois et l'on évita avec soin de lui occasionner aucune entaille.

La moelle ainsi préparée subit, par le fait d'avoir été libérée de la tension des tissus externes, un allongement d'environ 6 millimètres par décimètre, soit de 6 °/₀. Elle fut alors coupée en morceaux de 100 millimètres de long.

Quant aux températures, nous disposions tout d'abord d'une chambre à température constante de 16°. Pour les températures plus élevées (20°, 25° et 30°), nous expérimentions dans une pièce aménagée de telle façon que la température y varie à certains niveaux, mais reste, dans chaque couche d'air, parfaitement constante. Une serre attenant à une chambre chauffée nous donnait une température constante de 12° et dans une autre, située dans un sous-sol et exposée au nord, régnait une température de 6°, laquelle restait souvent constante pendant plusieurs jours. La température 0° était obtenue au moyen de glace fondante entourant le récipient qui contenait l'eau ou la solution, le tout étant placé dans un grand bac dans lequel se trouvaient entassés du foin et de la sciure de bois et qui était recouvert de paillassons.

L'eau ou les solutions, avant de recevoir les morceaux de moelle, avaient eu le temps de prendre la température de l'endroit où devait se pratiquer l'expérience. Les solutions étaient employées en volumes d'un litre au moins, afin que la très légère dilution résultant de la sortie d'eau des cellules ne pût modifier la concentration d'une façon appréciable.

Afin de donner aux tissus à plasmolyser leur maximum de turgescence, les cylindres de 100 millimètres de long sont d'abord portés dans de l'eau d'une température constante de 18°, où ils séjournent pendant six heures. La moelle s'y allonge et les morceaux acquièrent de la sorte une longueur presque uniforme de 114 millimètres, la plus forte différence en plus ou en moins n'excédant pas $2^{\mathrm{mm}},5$. Nous choisissons, pour l'expérience, des cylindres de moelle mesurant tous rigoureusement 114 millimètres. Chacun d'eux est divisé, longitudinalement, en deux moitiés aussi semblables que possible. L'une des moitiés est portée dans la solution à la température dont on veut étudier l'effet sur la perméabilité, l'autre toujours dans un milieu à 0°, afin de s'assurer jusqu'à quel point le matériel donne des résultats comparables. Nous choisissions la température de 0° comme terme de comparaison, parce que nous l'obtenions très constante.

La solution plasmolysante était de saccharose. Elle possédait une concentration de 25 %, soit de 0,751 mole (1) par litre, et exerçait, à 18°, une pression de 1769,84 $\overset{\tau}{\mathrm{M}}$ (2). Les cellules de la moelle de *Sambucus* avaient un suc cellulaire isotonique avec une solution de saccharose d'une concentration de 0,282 mole par litre, ce qui, à 18°, correspond à une pression de 682,76 $\overset{\tau}{\mathrm{M}}$.

---

(1) C'est ainsi que M. le professeur Errera (1900, pp. 8 et suiv.) a traduit l'expression « Mol » employée par Ostwald, Nernst et d'autres, pour désigner le nombre de grammes d'une substance égal à son poids moléculaire.

(2) $\overset{\tau}{\mathrm{M}}$ signifie : *myriotonie*. C'est une unité rationnelle de pression osmotique, équivalente à la myriadyne par centimètre carré, valant approximativement 0,01 d'atmosphère et que M. le professeur ERRERA (1901, p. 141, ou ci-dessus, p. 198; voir aussi : VAN RYSSELBERGHE, 1899, p. 32, note 2) a proposé d'adopter pour toutes les recherches physiologiques d'osmose, à la suite de nos études sur la « réaction osmotique des cellules végétales » où nous nous servions d'une unité très petite de pression que nous représentions par *is*, exercée par une solution d'une concentration de 0,001 mole $KNO^3$ par litre et qui équivaut sensiblement à 0,05 d'atmosphère, c'est-à-dire approximativement à 5 $\overset{\tau}{\mathrm{M}}$. (V. R., 1899, pp. 32 et suiv.)

Pour le calcul de la pression, voir ERRERA, 1901, p. 147, ou ci-dessus, p. 203.

Le nombre de $\overset{\tau}{\mathrm{M}}$ divisé par 100 donne approximativement la pression en atmosphères. (ERRERA, ibid.)

Par intervalles, et chaque fois au même moment pour les deux moitiés provenant d'un même cylindre, on mesure les longueurs acquises, en ayant soin de pratiquer l'opération dans les milieux mêmes. Les résultats sont consignés dans le tableau suivant qui fournit, chaque fois, les données de deux recherches parallèles faites au moyen des deux moitiés d'un même cylindre de moelle. Les nombres expriment, en millimètres, les raccourcissements présentés par les tissus à partir du début de l'expérience, après les temps indiqués dans la première colonne. Comme il s'agit de diminutions de longueur, ces nombres sont précédés du signe —.

Avant de déduire une conclusion de ce tableau, il est utile de nous assurer si les résultats ne sont entachés d'aucune cause d'erreur. Il est certain que, pour toutes les expériences, les conditions étaient identiques, sauf la température : même longueur initiale des morceaux de moelle, même turgescence, même substance dissoute, même concentration de milieu. Et les résultats si concordants obtenus partout à 0° montrent que les différents morceaux de moelle étaient bien comparables entre eux. Tout au plus, les deux moitiés employées dans chaque recherche particulière pouvaient-elles différer très légèrement par l'épaisseur, mais il ne pouvait en résulter d'erreur sensible.

Les dimensions transversales des demi-cylindres ne subirent, lors de la contraction, aucun changement appréciable. Il en résulte que les rapports entre les vitesses de passage de l'eau peuvent s'exprimer par ceux existant entre les longueurs seules des tissus.

Nous avons choisi la saccharose comme substance plasmolysante, parce qu'elle pénètre très difficilement au travers du protoplasme, même aux températures les plus élevées auxquelles nous avons expérimenté, condition indispensable pour ne pas altérer la valeur du pouvoir osmotique cellulaire par toute cause étrangère à la plasmolyse même. Quant à l'accroissement du pouvoir osmotique suivant la température, d'après la loi de van 't Hoff, il a lieu aussi bien pour le suc cellulaire que pour les milieux. S'il y a, en plus, une élévation du pouvoir osmotique cellulaire par suite de l'adaptation des cellules aux solutions (V. R. 1899, p. 57 et suiv.), elle acquiert certainement,

| | 0° | 6° | 0° | 12° | 0° | 16° | 0° | 20° | 0° | 25° | 0° | 30° |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| 2 heures . . . . . | - 4,5 | - 8,5 | - 5,0 | - 20,0 | - 5,0 | - 33,0 | - 5,5 | - 40,5 | - 5,5 | - 41,5 | - 5,0 | - 40,0 |
| 4 heures . . . . . | - 7,5 | - 13,5 | - 8,0 | - 25,0 | - 8,0 | - 38,0 | - 8,0 | - 42,0 | - 8,5 | id. | - 8,0 | - 41,0 |
| 6 heures . . . . . | - 10,0 | - 17,0 | - 10,5 | - 28,0 | - 10,0 | - 42,0 | - 10,5 | id. | - 10,0 | id. | - 10,0 | id. |
| 8 heures . . . . . | - 12,5 | - 20,0 | - 13,0 | - 30,0 | - 12,5 | id. | - 12,0 | id. | - 13,0 | id. | - 12,5 | id. |
| 10 heures . . . . . | - 14,0 | - 21,5 | - 14,0 | - 31,5 | - 14,0 | id. | - 13,5 | id. | - 14,5 | id. | - 14,0 | id. |
| 24 heures . . . . . | - 21,0 | - 31,0 | - 21,5 | - 40,0 | - 21,0 | id. | - 22,0 | id. | - 22,5 | id. | - 21,0 | id. |

pendant le laps de temps qui compte réellement dans l'expérience et relativement à la forte pression que possède la solution plasmolysante, une valeur trop faible pour pouvoir entrer en ligne de compte.

Des chiffres mentionnés plus haut, nous pouvons donc déduire :

1° Dans chaque recherche particulière, la perméabilité du protoplasme pour l'eau se manifeste avec d'autant plus d'intensité que la solution est plus chaude ;

2° La quantité *totale* d'eau soustraite au tissu est partout très sensiblement la même. C'est ce qui ressort des expériences où la moelle a pu atteindre une longueur constante ;

3° C'est au début de l'expérience que la quantité d'eau soutirée aux cellules est le plus notable et c'est alors que l'influence de la température sur la perméabilité produit surtout son effet. Pendant toute la période qui suit, ces différences sont peu marquées. Nous nous rapprochons donc le plus de la vérité en déduisant, dans chaque cas, des premiers nombres (obtenus après deux heures d'expérience), le rapport entre les rapidités avec lesquelles l'eau passe à travers le protoplasme aux deux températures considérées ;

4° Donc à 6°, 12°, 16°, 20°, 25° et 30°, le protoplasme des cellules de la moelle de *Sambucus* est respectivement environ 1.8, 4, 6.5, 7.5, 7.5 et 8 fois plus perméable pour l'eau qu'à 0°. C'est-à-dire que la perméabilité du protoplasme pour l'eau sortant de la cellule augmente avec la température, et cela très rapidement à partir d'une température voisine de 6° jusqu'à une autre comprise entre 16° et 20°, pour s'accroître beaucoup moins dans la suite.

### B. — *Méthode de l'allongement dans l'eau d'un tissu plasmolysé.*

Les cylindres de moelle, avant d'être divisés longitudinalement, sont plasmolysés dans une solution de saccharose à 20 % (= 0,58 mole par litre) exerçant une pression de 1404,25 M à 18°, température à laquelle se fait l'opération. Ils atteignent de cette façon, après douze heures, une longueur presque uniforme de 78 millimètres. On choisit des morceaux mesurant tous exactement 78 millimètres. Des deux moitiés provenant d'un même cylindre, l'une est toujours placée dans l'eau à 0°, l'autre dans de l'eau qui a pris préalablement la température voulue. Voici, réunis en un tableau, les résultats obtenus (v. p. 222). Les nombres expriment, en millimètres, les changements de longueur éprouvés après les laps de temps indiqués dans la première colonne. Puisqu'il s'agit d'allongements, ces valeurs sont précédées du signe +.

Comme on voit, nous avons mesuré ici de quinze en quinze minutes. Il importait, en effet, dans ces expériences d'allongement d'un tissu, de restreindre autant que possible la durée des observations, sous peine d'arriver à des résultats faussés par la croissance, laquelle varie d'une température à l'autre.

De même que pour les expériences de raccourcissement d'un tissu, toutes les conditions, sauf la température, peuvent être considérées comme constantes, et nous pouvons conclure des nombres mentionnés :

1° L'allongement du tissu, autrement dit : la perméabilité du protoplasme pour l'eau, est d'autant plus notable que cette eau est plus chaude ;

2° L'allongement, comme le raccourcissement, se manifeste surtout dans les premiers moments de l'expérience ;

3° En prenant donc comme mesure de perméabilité la vitesse avec laquelle le phénomène a lieu dans les premières quinze minutes,
à 6°, 12°, 16°, 20°, 25° et 30°, la perméabilité du protoplasme pour
l'eau est ici respectivement environ
2, 3, 6, 7, 7.5 et 8 fois plus grande qu'à 0°.

Ces rapports ne s'éloignent pas beaucoup de ceux trouvés, après deux heures d'expérience, par la méthode du raccourcissement d'un tissu dans une solution plasmolysante.

Si nous calculons la moyenne des rapports obtenus, à chaque température, par l'une et l'autre des deux méthodes décrites, nous pourrons, en prenant comme abscisses les températures et comme ordonnées les moyennes trouvées, construire une courbe qui représentera assez exactement la marche des variations de la perméabilité

| | 0° | 6° | 0° | 12° | 0° | 16° | 0° | 20° | 0° | 25° | 0° | 30° |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| 15 minutes. . . . . | +0,5 | +1,0 | +0,5 | +2,5 | +0,5 | +3,0 | +1,0 | +7,0 | +1,0 | +7,5 | +1,0 | +8,0 |
| 30 minutes. . . . . | +1,0 | +2,0 | +0,5 | +5,0 | +1,0 | +5,5 | +1,0 | id. | +1,0 | id. | +1,0 | id. |
| 45 minutes. . . . . | +1,5 | id. | +1,5 | id. | +1,0 | id. | +1,5 | id. | +1,5 | id. | +2,0 | id. |
| 60 minutes. . . . . | id. | id. | id. | id. | +2,0 | id. | id. | id. | id. | id. | id. | id. |

du protoplasme pour l'eau, dans les cellules de la moelle de *Sambucus nigra,* aux différentes températures (fig. 1).

| | 0° | 6° | 12° | 16° | 20° | 25° | 30° |
|---|---|---|---|---|---|---|---|
| Méthode du raccourcissement . . . . | 1 | 1,8 | 4,0 | 6,5 | 7.3 | 7,5 | 8 |
| Méthode de l'allongement . . . . . | 1 | 2,0 | 5,0 | 6,0 | 7,0 | 7,5 | 8 |
| MOYENNES. . | 1 | 1,9 | 4 5 | 6,25 | 7,15 | 7,5 | 8 |

Ce tracé se compose en réalité de trois parties rectilignes où la perméabilité augmente donc proportionnellement à la température : approximativement à raison de 0,05 par degré jusque vers 5°, de 0,433 à partir de 5° jusque 18° environ, de 0,01 pour les températures supérieures à 18°.

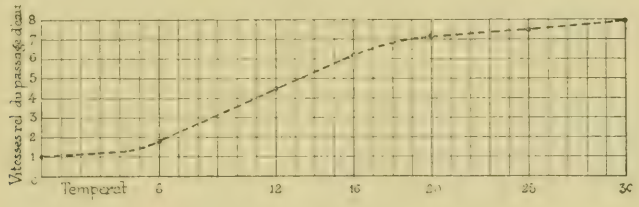


FIG. 1.

C et D. — *Méthode de la plasmolyse et de la « déplasmolyse » suivies au microscope.*

Nous nous servions ici des cellules de l'épiderme inférieur de la feuille de *Tradescantia discolor* (pouvoir osmotique correspondant à 0,16 mole $KNO^3$ par litre = env. 700 $\bar{M}$) (1) et de cellules de *Spirogyra*

---

(1) Cette valeur en myriotonies doit être substituée à celle du *Bull. Acad.* qui est légèrement trop faible. On a corrigé de même les autres valeurs en myriotonies indiquées dans le présent travail, en négligeant toutefois les variations — encore mal connues — de *i* avec la température. L. E.

(pouvoir osmotique correspondant à 0,15 mole $KNO^3$ par litre = env. 650 $\bar{\dot{\mathrm{M}}}$).

La technique devait remplir ici deux conditions assez difficiles à réaliser. Tout d'abord, les cellules devaient rester à une température bien constante pendant toute la durée d'une expérience, aussi bien dans la solution que dans l'eau par laquelle celle-ci était remplacée dans la suite et aussi bien pendant l'observation que pendant le changement de milieu. Ensuite, afin d'arriver à des résultats comparables, il fallait que pendant toute la durée de l'expérience, l'observation portât toujours sur les mêmes cellules.

Voici comment nous satisfaisions à ces *desiderata*. Nous nous servions du petit appareil représenté en grandeur naturelle (fig. 3) et qui avait été fabriqué spécialement en vue de nos expériences. C'est en somme une petite bouteille déprimée, pourvue latéralement de deux tubes en verre qui débouchent immédiatement au-dessus du fond. L'ouverture supérieure est munie d'un rebord rodé à l'émeri. Chaque ajutage est muni d'un tube en caoutchouc pourvu d'une pince.

Appliquons une coupe d'épiderme de *Tradescantia* sur une lamelle en l'y maintenant par deux petits points de gélatine placés aux deux extrémités de la coupe; retournons la lamelle sur l'ouverture du petit flacon après avoir étendu préalablement sur le rebord une mince couche d'un mélange de graisse et de cire qui maintiendra le couvre-objet en place et s'opposera à toute sortie de liquide. Adaptons l'un des tubes en caoutchouc à un entonnoir : voilà l'appareil prêt à fonctionner (fig. 4). Il ne s'agit plus que de faire arriver la solution dans le petit récipient, en ayant soin d'incliner celui-ci de façon qu'il finisse par ne plus contenir d'air, lequel viendrait se loger sous la coupe et nuire à l'observation. Si cependant une bulle d'air était restée dans le flacon, on peut faire en sorte qu'elle s'attache aux parois latérales en donnant une inclinaison convenable au microscope. Afin de faciliter cette manœuvre et d'empêcher l'instrument de glisser sur la platine du microscope, on le fixe, au moyen d'un mélange de cire à cacheter et de cire ordinaire, sur une lame de verre trouée au milieu et maintenue par les deux valets. Souvent aussi, l'appareil était simplement fixé sur la platine par deux bandes de caoutchouc (fig. 4).

Pour la température de 0°, il a fallu, à défaut de chambre où régnât cette température, combiner un dispositif spécial (fig. 5). La solution, et plus tard l'eau, étaient refroidies dans un tube fermé inférieurement par un bouchon que traverse un autre tube, plus étroit, auquel vient s'adapter le tuyau en caoutchouc (muni d'une pince) de l'appareil décrit précédemment. Le tube large est scellé dans la tubulure d'une cloche renversée contenant de la glace fondante, l'eau de fusion de celle-ci atteignant toujours au moins la hauteur de la solution ou de l'eau dans le tube. Le petit flacon se trouve au fond d'un récipient rempli aussi de glace fondante et dans lequel il est fixé au moyen de morceaux de liège. Le récipient est choisi aussi grand que le permettent les dimensions du microscope. Il est entouré de flanelle et fermé par une plaque de zinc à ouvertures donnant passage au tube du microscope, à un thermomètre et aux tubes de caoutchouc. Nous opérions, ou bien avec un objectif ordinaire recouvert d'un capuchon en métal fermé inférieurement par une lamelle afin de préserver les lentilles, ou bien, nous employions un objectif faible à immersion recouvert d'un bout de tube en caoutchouc fort et serrant suffisamment pour éviter toute pénétration d'eau par les pas de vis. Afin d'empêcher que la lamelle, à laquelle adhérait la coupe, ne glissât par suite des chocs que pouvaient occasionner les morceaux de glace, nous la fixions solidement au moyen d'un bourrelet de gélatine qui l'entourait entièrement. D'autre part, de crainte que le liquide venant du réfrigérant ne s'échauffât pendant son trajet vers le petit flacon, nous placions l'ouverture du tube aussi près que possible du récipient que supporte le microscope et nous donnions au tube en caoutchouc une longueur suffisante pour qu'il fût possible de lui faire décrire plusieurs tours dans l'eau de fusion de la glace avant son arrivée au flacon.

En opérant comme nous venons de l'indiquer, on peut aisément maintenir les cellules à la température de 0° pendant toute la durée d'une expérience.

La solution étant introduite, on observe une ou plusieurs cellules bien déterminées jusqu'à la fin de la plasmolyse, en recourant au dessin à la chambre claire pour bien s'assurer du moment où le volume du protoplaste est devenu constant. On remplace ensuite la solution par de l'eau à la même température, *sans vider le flacon,* afin d'éviter la pénétration de l'air et la concentration de la petite quantité de solution qui serait restée adhérente à la coupe. On a soin aussi de maintenir assez longtemps la pince ouverte pour que toute trace de saccharose soit éliminée de l'appareil. On détermine le temps que met la cellule à reprendre ses dimensions initiales.

Les résultats obtenus figurent dans le tableau de la page 227.

Si nous calculons le rapport existant, pour chaque cellule, entre la durée totale de la sortie ou de l'entrée de l'eau à une température *t* et la durée totale du phénomène à 0°, nous obtenons les nombres mentionnés dans le tableau de la page 228. Ceux en gros caractères expriment les moyennes entre les rapports concernant la sortie de l'eau d'une part et l'entrée du liquide d'autre part.

Les faibles différences existant, chez les cellules de *Tradescantia,* entre les rapports obtenus dans les solutions saline et sucrée, sont très probablement dues au fait que le $KNO^3$ traverse très facilement le protoplasme.

Malgré ces légères divergences, les résultats obtenus pour la durée totale du passage d'eau par la méthode de l'observation directe de la plasmolyse et de la « déplasmolyse », même sur des cellules différentes, sont très rapprochés de ceux fournis pour la vitesse du phénomène par la méthode du raccourcissement et de l'allongement de la moelle de *Sambucus nigra.* Et la courbe que nous avons dessinée à la suite des expériences sur *Sambucus* peut être considérée comme montrant, d'une façon approchée, la marche générale des variations que subit, avec la température, la vitesse du passage de l'eau au travers du protoplasme vivant.

| SOLUTIONS. | | | *TRADESCANTIA.* | | *SPIROGYRA.* | |
|---|---|---|---|---|---|---|
| Corps en solution et concentrations. | Températures. | Pressions en $\overset{\tau}{\mathrm{M}}$. | Durée de la plasmolyse. | Durée de la « déplasmolyse ». | Durée de la plasmolyse. | Durée de la « déplasmolyse ». |
| $KNO^3$<br>0,20 mole par litre. | 0° | 818 | 3 h. 15 m. | 3 h. 7 m. | 3 h. 40 m. | |
| | 6° | 836 | 1 h 35 m. | 1 h. 29 m. | 1 h. 43 m | |
| | 16° | 866 | 0 h. 38 m. | 0 h. 34 m. | 0 h 39 m. | |
| | 20° | 878 | 0 h. 30 m. | 0 h. 23 m. | 0 h. 38 m. | |
| | 25° | 893 | 0 h. 27 m. | 0 h. 25 m. | 0 h. 32 m. | |
| | 30° | 908 | 0 h. 24 m. | 0 h. 23 m. | 0 h. 26 m. | |
| Saccharose.<br>Solution isotonique avec celle de $KNO^3$ :<br>$c = \frac{p}{i\mathrm{RT}}$ (1). | 0° | 818 | 3 h. | 2 h. 55 m. | 3 h. 25 m. | 3 h. 12 m. |
| | 6° | 836 | 1 h. 25 m. | 1 h. 12 m. | 1 h. 40 m. | 1 h. 42 m. |
| | 16° | 866 | 0 h. 30 m. | 0 h. 36 m. | 0 h. 34 m | 0 h. 32 m. |
| | 20° | 878 | 0 h. 25 m. | 0 h. 29 m. | 0 h. 27 m. | 0 h. 26 m. |
| | 25° | 893 | 0 h. 24 m. | 0 h. 24 m. | 0 h. 26 m. | 0 h. 26 m. |
| | 30° | 908 | 0 h. 22 m. | 0 h. 23 m. | 0 h. 24 m. | 0 h. 22 m. |

(1) $c$ = concentration; $p$ = pression en $\overset{\tau}{\mathrm{M}}$ exercée par la solution de $KNO^3$ à la même température; $i$ = coefficient de dissociation électrolytique = 1; R = 8,32; T = température absolue. (ERRERA, 1901, p. 148, ou ci-dessus, p. 204.)

| SOLUTIONS. | | *TRADESCANTIA.* | | | *SPIROGYRA.* | | |
|---|---|---|---|---|---|---|---|
| Corps en solution et concentrations. | Températures. | Rapports concernant la sortie de l'eau. | Rapports concernant l'entrée de l'eau. | MOYENNES. | Rapports concernant la sortie de l'eau. | Rapports concernant l'entrée de l'eau. | MOYENNES. |
| $KNO^3$ 0,20 mole par litre. | 0° | — | — | **1,0** | 1,0 | | |
| | 6° | 2,0 | 2,2 | **2,1** | 2,1 | | |
| | 16° | 5,1 | 5,5 | **5,3** | 4,6 | | |
| | 20° | 6,5 | 6,6 | **6,55** | 5,7 | | |
| | 25° | 7,2 | 7,4 | **7,3** | 6,9 | | |
| | 30° | 8,1 | 8,1 | **8,1** | 8,4 | | |
| Saccharose. Solution isotonique avec celle de $KNO^3$. | 0° | — | — | **1,0** | — | — | **1,0** |
| | 6° | 2,1 | 2,4 | **2,25** | 2,05 | 1,9 | **1,97** |
| | 16° | 6,0 | 4,9 | **5,45** | 6,0 | 6,0 | **6,0** |
| | 20° | 7,2 | 6,0 | **6,6** | 7,5 | 7,4 | **7,45** |
| | 25° | 7,5 | 7,3 | **7,4** | 7,5 | 7,4 | **7,45** |
| | 30° | 8,1 | 7,6 | **7,85** | 8,5 | 8,7 | **8,6** |

Nos expériences sur le raccourcissement et l'allongement des tissus ont montré que la température influe sur la *rapidité* du passage de l'eau et non sur la *quantité totale* d'eau que les cellules peuvent abandonner ou absorber : des morceaux de moelle de même longueur finissaient, en effet, par acquérir, aux différentes températures, des dimensions presque identiques, soit à la suite de la plasmolyse, soit après la « déplasmolyse ». Dans les expériences décrites en dernier lieu, ce fait ne pouvait se contrôler, vu que les cellules observées aux différentes températures avaient nécessairement des dimensions très différentes.

## § 2. — Perméabilité pour les substances dissoutes.

Cette perméabilité a été mise en évidence par la disparition de la plasmolyse dans les cellules épidermiques de *Tradescantia discolor* séjournant dans des solutions de $KNO^3$, glycérine et urée. Ces solutions étaient maintenues aux températures voulues dans le petit appareil déjà décrit. De cette façon, il était possible d'observer tout le phénomène sur une même cellule.

Afin de nous mettre partout dans des conditions aussi identiques que possible, nous plasmolysions chaque fois les cellules dans une solution de saccharose tenue à la température de la chambre et quand la plasmolyse était complète, nous faisions arriver dans l'appareil la solution de $KNO^3$, glycérine ou urée isotonique avec celle de saccharose et portée préalablement à la température voulue. En agissant ainsi, nous écartions aussi la cause d'erreur résultant du passage dans la cellule, pendant la plasmolyse même, des substances en expérience, d'autant plus que celles-ci avaient été choisies, à dessein, parmi les corps pour lesquels le protoplasme se montre très perméable.

Il va sans dire qu'ici encore, les observations, sauf celles à 0°, furent faites dans des chambres où régnait la température que devaient posséder les solutions.

Lorsque l'expérience devait se continuer pendant plus d'un jour à la température de 0°, nous enfermions, pendant la nuit, le microscope pourvu du récipient contenant notre petit appareil et la glace en fusion, dans le bac qui nous a servi à obtenir la température constante de 0° dans les expériences sur la moelle de *Sambucus*. La fusion de la glace se continuait dès lors très lentement et, le lendemain, nous la retrouvions presque dans l'état où nous l'avions laissée la veille.

Les résultats sont consignés dans le tableau de la page 231, qui donne les temps employés par les cellules plasmolysées pour reprendre, à chaque température, leur aspect normal, ainsi que les rapports entre chacun de ces temps et celui déterminé à 0°. Ces derniers figurent en gros caractères.

Nos chiffres sont ici presque identiques à ceux qui caractérisent la perméabilité du protoplasme pour l'eau à différentes températures, et le tracé donné page 223, pour l'eau, s'applique en même temps aux variations que subit, dans les mêmes conditions, la perméabilité du protoplasme pour les substances dissoutes.

Il suit aussi de ces expériences que le protoplasme se montre perméable aux températures basses, et même à 0°, pour les corps en solution, mais que le passage est alors très lent.

Il est utile de faire remarquer que les cellules étaient encore parfaitement vivantes à la fin de l'expérience : on pouvait, en effet, obtenir encore leur plasmolyse, parfaitement normale, dans des solutions plus concentrées.

Nous avons donc réfuté l'idée de Krabbe (p. 483), d'après laquelle le protoplasme ne serait pas perméable pour les substances dissoutes à une température inférieure à 5°, comme nous avons réfuté aussi, par nos expériences sur la moelle de *Sambucus*, l'hypothèse de Schwendener (p. 945), suivant laquelle le protoplasme ne se laisserait plus traverser par l'eau à 0°.

Une méthode bien plus simple encore peut nous démontrer que l'opinion de Schwendener n'est pas fondée. Si, en effet, le protoplasme n'était pas perméable pour l'eau à 0°, un organe végétal

| | | 0° | 6° | 12° | 16° | 20° | 25° | 30° |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| Solutions isotoniques avec 0,20 mole $KNO^3$ par litre. | $KNO^3$ . . . | 60 h. | 33 h. | 12 h. 30 m. | 10 h. | 8 h. | 8 h. | 7 h. 45 m. |
| | | **1,0** | **1,8** | **4,4** | **6,0** | **7,3** | **7,3** | **7,7** |
| | Glycérine . . | 14 h. | 7 h. 15 m. | 3 h. 20 m. | 2 h. 30 m. | 2 h. | 2 h. | $<$ 2 h. |
| | | **1,0** | **1,9** | **4,2** | **5,6** | **7,0** | **7,0** | **$<$ 7,0** |
| | Urée. . . . | 15 h. 15 m. | 7 h. 15 m. | 3 h. 20 m. | 2 h. 50 m. | 2 h. 10 m. | 2 h. | 2 h. |
| | | **1,0** | **2,1** | **4,5** | **5,3** | **7,0** | **7,6** | **7,6** |

maintenu à cette température ne devrait pas se faner dans un milieu sec. Or, une plantule de *Brassica Napus*, suspendue au bouchon qui ferme un flacon contenant un peu de $H^2SO^4$ concentré et placé dans l'eau de fusion de la glace, se fane tout aussi bien qu'une autre placée dans un milieu sec à 18°; elle y met toutefois un temps bien plus long. Tandis que cette dernière devient déjà très flasque après deux heures, l'autre reste turgescente pendant plus de deux jours. On arrive au même résultat en se servant d'un exsiccateur au $CaCl^2$.

## CHAPITRE II.

### Sur la nature (physiologique ou physique) des variations thermiques de la perméabilité du protoplasme.

Se basant sur le fait qu'à la température de 20° la quantité d'eau qui traverse le protoplasme pendant l'unité de temps est trois à cinq fois plus grande que celle qui passe, à la même température et pendant le même temps, au travers d'une membrane précipitée de ferrocyanure de cuivre, Krabbe (p. 481) conclut que la perméabilité du protoplasme n'obéit pas aux simples lois de l'osmose et qu'il y a un facteur physiologique qui intervient : la faculté que posséderait le protoplasme vivant de varier, suivant la température, la largeur de ses mailles.

Physiquement, la couche protoplasmique se conduit comme une membrane de ferrocyanure de cuivre à laquelle on l'a souvent comparée. Toutes deux s'opposent, par exemple, au passage de la saccharose. Et la comparaison semble d'autant plus logique que, dans les deux cas, c'est une pression osmotique qui préside au mouvement de l'eau.

Il n'est pourtant pas permis de conclure *a priori* à l'intervention d'un facteur physiologique dans la perméabilité différente du protoplasme aux diverses températures, par le seul motif que sa perméabilité varie, d'après la température, d'une façon beaucoup plus notable que cela n'a lieu chez une substance inerte qui partage seulement avec lui la propriété de s'opposer presque complètement au passage du sucre.

Dans une membrane précipitée de ferrocyanure de cuivre, l'eau se meut dans des espaces capillaires. Or, la formule de la vitesse d'ascension de l'eau dans des tubes capillaires, à différentes températures, semble n'être pas générale. Ainsi, tandis que la formule de Poiseuille, concernant les capillaires de verre, et qui, suivant les recherches de Schmidt, s'applique aussi au mouvement de l'eau dans des membranes animales, peut se réduire à

$$1 + 0{,}034t$$

(Krabbe, p. 478), celle découlant des expériences de Pfeffer (1877, p. 85) sur des membranes précipitées de ferrocyanure de cuivre est sensiblement (Krabbe, p. 479)

$$1 + 0{,}045t.$$

La différence entre les deux coefficients de température n'est pas, on le voit, négligeable. Et il n'est plus, dès lors, impossible que ce coefficient de température possède une valeur autre encore dans le protoplasme. Ceci paraîtra plus probable encore si nous montrons que dans une substance déterminée, les variations que subit, avec la température, le mouvement de l'eau, se rapprochent davantage de celles qui caractérisent la cellule vivante.

Prenons une coupe d'épiderme foliaire de *Tradescantia discolor* et plasmolysons ses cellules dans une solution de saccharose isotonique avec 0,20 mole $KNO^3$ par litre. Quand la plasmolyse est complète, retirons la coupe de la solution, débarrassons-la soigneusement de toute trace de cette dernière au moyen de papier à filtrer et plaçons-la sur une lamelle propre et sèche. Recouvrons-la ensuite d'une couche de 5 millimètres de gélatine à 8 % rendue bien neutre, en ayant soin de donner partout, à cette couche, la même épaisseur et de lui faire dépasser partout aussi de 5 millimètres le pourtour de la coupe. Retournons la lamelle sur le petit flacon déjà plusieurs fois employé et faisons-y arriver de l'eau à 20°. Quand la plasmolyse commencera à diminuer, l'eau aura parcouru, par imbibition, une longueur de 5 millimètres dans la gélatine. Il est à remarquer que le tissu se maintient en très bon état dans le milieu gélatineux.

L'eau parcourt toute l'épaisseur de la couche de gélatine en sept heures.

Répétons l'expérience avec les cellules plasmolysées à 20° et placées dans une gaine de gélatine de 5 millimètres d'épaisseur, laquelle est mise cette fois en contact avec de l'eau à 0°. Le protoplaste commence à augmenter de volume après 31 h. 15 m. Comme il faut, dans les conditions normales, 3 h. 25 m. pour produire le même phénomène, nous pouvons dire que le demi-centimètre est parcouru par le liquide en 28 heures environ.

Dans notre gélatine, l'eau se meut donc environ quatre fois plus rapidement à 20° qu'à 0°, tandis que le rapport des vitesses à ces mêmes températures n'est que de 1.68 pour un tube capillaire de verre (Krabbe, p. 478) et de 1,9 pour une membrane de ferrocyanure de cuivre (id., p. 479).

Ce rapport reste le même si nous favorisons le passage de l'eau par une pression que nous faisons agir sur l'eau du flacon au moyen d'une pompe de Müncke, en ayant soin de mieux assujettir la lamelle par deux cordons de caoutchouc. Sous 3 atmosphères, les cellules sont « déplasmolysées » après 2 h. 40 m. à 20° et après 11 h. à 0°.

Ici nous nous rapprochons davantage des conditions d'expérimentation de Krabbe et de nous-même : pour des cellules plongées dans des solutions ou pour des cellules plasmolysées qui se trouvent dans l'eau, le mouvement de ce liquide est, en effet, influencé par la pression osmotique comme il l'est, dans l'expérience décrite, par la pression hydrostatique.

Recouvrons maintenant d'une couche de gélatine de 5 millimètres, une coupe à cellules non plasmolysées et plaçons la préparation dans une solution de 0,20 mole $KNO_3$ par litre, tenue à la température de 20°.

La plasmolyse commence après 5 h. 30 m. Comme, normalement, la plasmolyse débute, dans les cellules de *Tradescantia* plongées dans cette solution à 20°, après deux minutes, nous pouvons dire sans trop d'erreur que la solution a mis 5 h. 30 m. à parcourir, dans la gélatine, une distance d'un demi-centimètre.

A 0°, la plasmolyse débute après 23 h. 30 m. Soustrayons 1 h. 30 m. pour le temps que met la solution, une fois en contact avec la coupe, pour plasmolyser les cellules, restent 22 heures pour le temps qu'a mis la solution à parcourir, dans la gélatine, les 5 millimètres; c'est-à-dire, encore environ quatre fois plus de temps qu'à 20°.

Il est très probable qu'au point de vue qui nous occupe, d'autres substances que la gélatine à 8 % se rapprochent encore davantage du protoplasme, et il n'y a plus, dès lors, de raison d'affirmer une intervention physiologique de celui-ci dans sa perméabilité, variable avec la température, tant pour l'eau que pour les substances dissoutes.

Cependant, même après tout cela, on serait mal venu à vouloir nier toute action vitale du protoplasme dans le but de faciliter ou d'entraver partiellement, suivant la température, le passage de l'eau. Tout ce qui vient d'être dit montre, tout au moins, que l'argument invoqué par Krabbe pour l'admettre est insuffisant. C'est tout ce que nous voulions démontrer.

## CHAPITRE III.

### La valeur de la pression osmotique cellulaire est indépendante de la constitution physique du protoplasme.

Krabbe (p. 488) admet que le protoplasme n'est perméable pour l'eau que sous une pression unilatérale minimum, laquelle serait d'autant plus petite que le protoplasme, par ses propriétés physiques, offrirait moins de résistance au mouvement de l'eau. Là où ce minimum de pression n'est pas atteint, la pression osmotique intracellulaire resterait en dessous de sa pleine valeur de toute la force que le protoplasme oppose à la mise en mouvement de l'eau (pp. 488-489).

D'autre part, nous avons vu que cet auteur admet aussi que la résistance qu'offre le protoplasme au mouvement de l'eau est d'autant plus notable que la température est moins élevée.

Ces deux faits posés en prémisses, il en découlait naturellement la variation du pouvoir osmotique cellulaire avec la température.

Dans la suite, nous montrons :

1° Que la notion de la « pression minimum » admise par Krabbe comme critérium de la perméabilité du protoplasme pour l'eau n'est pas fondée. Dans ce but, nous recourons à deux méthodes :

*A.* Une, directe, qui consiste à observer, sur la cellule même, la sortie ou l'entrée de l'eau après des changements de pression très faibles;

*B.* Celle où l'on observe les courbures occasionnées dans un tissu par la tension inégale des différentes couches cellulaires; c'est la méthode qui a conduit Krabbe à une conclusion tout à fait opposée à la nôtre;

2° Que la solution qui est isotonique avec un suc cellulaire le reste à toute température, ce qui revient à dire que la pression intracellulaire ne s'accroît, comme celle exercée par toute solution, que de $^1/_{273}$ par degré.

### § 1. — LE PLUS FAIBLE EXCÈS OSMOTIQUE SUFFIT A FAIRE PASSER A TRAVERS LE PROTOPLASME L'EAU ET LES SUBSTANCES POUR LESQUELLES IL EST PERMÉABLE.

#### A. — *Méthode de la plasmolyse et de la « déplasmolyse » graduelles.*

Soit $p$ la pression régnant dans une cellule vivante plongée dans une solution qui exerce une pression osmotique $p'$ (fig. 2).

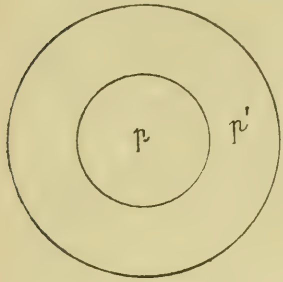


FIG. 2.

Les molécules, ionisées ou non, contenues dans les deux milieux, tendent sans cesse, tout comme les molécules gazeuses, à occuper un espace plus considérable. Si $p' > p$, l'eau sortira de la cellule pour se rendre dans la solution ambiante qu'elle diluera d'autant. Ce mouvement de l'eau est dû à la différence de pression ou à l'*excès osmotique* $p' - p$, que nous appellerons $e$, que possède le milieu sur le suc cellulaire. Théoriquement, ce mouvement continue jusqu'à ce que les deux solutions finissent par exercer la même pression osmotique. Entretemps, le volume du protoplaste diminue : il y a plasmolyse.

L'équilibre osmotique atteint, ajoutons de l'eau au milieu extérieur. Dès ce moment, c'est la cellule qui possède, sur la solution extérieure, un excès osmotique $p - p'$, une force d'expansion plus grande. Aussi l'eau se dirigera cette fois du milieu ambiant vers la cellule. Si l'excès osmotique n'est pas trop notable, l'eau peut entrer dans celle-ci jusqu'à ce que les pressions deviennent de nouveau identiques. Si, au contraire, l'excès est trop élevé, il arrive un moment où l'agrandissement de la vacuole cellulaire est arrêté par la résistance qu'offre la membrane.

Il s'agit maintenant de savoir si l'eau passe de la cellule vers le milieu, ou réciproquement, pour toute valeur de $e$, quelque petite qu'elle soit, ou bien, si le passage de l'eau à travers le protoplasme cesse pour une certaine valeur minimum de $e$.

Pour contrôler l'assertion de Krabbe, nous opérions de préférence sur des cellules allongées chez lesquelles — aussi longtemps que les solutions employées ne sont pas trop concentrées — l'augmentation ou la diminution de volume du protoplaste plasmolysé ne se produit qu'aux extrémités les plus éloignées. Quand, en effet, les cellules se rapprochent de la forme sphérique ou sont polyédriques, une faible augmentation ou diminution de volume se partageant également sur toute la surface de la couche protoplasmique, devient le plus souvent invisible.

Les cellules de l'épiderme inférieur de la feuille de *Tradescantia discolor,* plus spécialement celles prises sur la nervure médiane, certains *Spirogyra,* fournissent un matériel excellent. Mais celui qui a le mieux répondu au *desideratum* consistait dans les cellules jeunes et très allongées provenant de la germination des zoospores de *Vaucheria.*

Les coupes de tissus ou les cellules d'Algues étaient adaptées à notre appareil permettant de changer facilement de solution et qui a été décrit antérieurement (fig. 4). Comme il s'agissait d'étudier l'influence d'une différence de pression, il convenait de ne pas fausser les résultats en faisant intervenir en outre la pression hydrostatique due à la différence des niveaux dans l'entonnoir et le petit flacon, le choc mécanique produit par la rapidité du courant lors du changement de milieu, etc.

Toutes ces causes d'erreur ont été évitées aussi soigneusement que possible en mettant l'extrémité inférieure de l'entonnoir au même niveau que le petit flacon, en changeant très lentement de milieu, — et, cela va sans dire, sans vider préalablement l'appareil, — enfin, en prenant la petite bouteille de dimensions très restreintes.

Les observations se firent au moyen d'un objectif à immersion.

Nous avons exécuté, sur chaque espèce de cellule, deux séries d'expériences : la première avec des solutions de $KNO^3$, l'autre avec des solutions de saccharose.

Les diverses cellules étaient d'abord plasmolysées faiblement par une solution un peu hypertonique au suc cellulaire; puis, nous faisions successivement arriver en leur contact des solutions dont la pression augmentait régulièrement d'une quantité égale à celle exercée par une solution de 0,005 mole $KNO^3$ par litre. Il est bien entendu que chaque fois, avant de changer de milieu, nous attendions la fin de la diminution de volume du protoplaste.

Une fois la plasmolyse assez avancée, nous retournions l'expérience, c'est-à-dire que nous faisions arriver successivement dans l'appareil des solutions dont la pression diminuait régulièrement de celle exercée par 0,005 mole $KNO^3$ par litre.

Toujours, chaque augmentation de pression externe était accompagnée d'une diminution encore visible du volume du protoplaste. Chaque fois aussi, à toute diminution de la pression ambiante correspondait une augmentation du volume protoplasmique.

Si nous calculons la quantité dont la pression externe augmentait ou diminuait à chaque changement de milieu, nous servant pour cela de la méthode indiquée par Errera (1901, p. 147; ou ci-dessus, p. 205), nous trouvons que, dans les cas étudiés, l'eau passe certainement encore au travers du protoplasme lorsque *e* n'atteint que 24 $\overset{\tau}{\mathrm{M}}$ env., ce qui correspond approximativement à 0,25 atmosphère.

Les expériences qui viennent d'être décrites ont été faites à la température de 18°. S'il était vrai qu'à 0° les interstices protoplasmiques sont très réduits, la faible valeur trouvée pour *e* plus haut pourrait, à cette température, ne plus suffire à assurer le passage de l'eau à travers le protoplasme. Nous avons, pour nous en assurer, répété les mêmes expériences à 0° en adaptant à notre appareil le réfrigérant qui nous a déjà servi (fig. 5) et en observant dans la glace en fusion. Les mêmes changements du volume protoplasmique ont été constatés, sauf qu'ils se produisirent beaucoup plus lentement.

Comme les changements subis par le volume protoplasmique étaient dans tous les cas *très* apparents, — surtout dans les cellules de *Vaucheria*, — il est certain qu'on arriverait, par le même procédé, à mettre en évidence le passage de l'eau pour des valeurs de *e* bien inférieures à 24 $\overset{\tau}{\mathrm{M}}$. Mais une autre méthode va nous servir à démontrer que le protoplasme est encore perméable pour une force de diffusion se rapprochant de 0, sans qu'il existe un excès osmotique en faveur du suc cellulaire.

Dans une cellule qui a pris son maximum de turgescence dans l'eau, la pression osmotique exercée par le suc ne saurait avoir une influence sur le mouvement de l'eau se produisant de l'extérieur vers l'intérieur. Tout s'y passe, en effet, comme si le suc cellulaire se trouvait renfermé dans un espace à parois inextensibles; or, pour qu'une pression osmotique puisse produire un effet, il faut que les molécules et les ions contenus dans la solution occupent un espace capable de s'agrandir (Pfeffer, 1877, p. 47).

Mettons des *Lemna minor* et des *Azolla* pourvus de jeunes racines dans une solution de bleu de méthylène à $^1/_{200,000}$. Après un temps très court à la température de 18°, beaucoup plus long à 0°, nous trouvons un précipité bleu dans le suc cellulaire.

Si la solution si diluée de matière colorante exerce réellement une pression osmotique, tout au plus est-ce cette pression qui peut, suivant la théorie de Nernst (p. 517), occasionner le passage du bleu de méthylène de la solution dans la cellule. Nous ne connaissons pas la valeur osmotique de la substance. Tout ce que nous pouvons dire, c'est que, vu la grande complexité de la molécule, cette valeur osmotique doit être très faible. Mais supposons pour un instant qu'elle atteigne même celle de $KNO^3$; dans ce cas, la pression de la solution employée serait de 0,24 $\overset{=}{M}$, soit le $^1/_{100}$ de celle qui occasionnait encore un passage d'eau à travers le protoplasme dans les expériences de plasmolyse décrites il y a un instant.

Cette force si minime — si réellement elle intervient — suffit aussi, comme l'expérience le montre, à assurer le passage de la matière colorante dans la cellule à la température de 0°. De même la caféine, employée en solution de 0,006 %, pénètre, à la même température, dans les cellules de *Spirogyra* où elle occasionne, presque instantanément, une agrégation intense du protoplasme. Et après toutes ces considérations, il devient probable que l'eau pure entre et sort de la cellule sans autre intervention que les forces régnant dans la couche protoplasmique.

### B. — *Méthode des courbures de tissus.*

Krabbe (p. 791) laisse séjourner dans de l'eau d'une température de 1° à 2°, un cylindre assez épais de moelle d'*Helianthus* jusqu'à ce que celui-ci ait acquis sa turgescence maximum. Il le fend ensuite longitudinalement par le milieu, sur une certaine longueur, et constate que les deux moitiés se courbent de façon à devenir concaves sur les surfaces de section. L'auteur admet que la turgescence différente des cellules externes et internes de la moelle retirée de l'eau est due à la résistance qu'offrent, au passage du liquide, les utricules protoplasmiques des différentes cellules rangées, en chaque point, de la périphérie au centre du tissu et qui est d'autant plus forte pour une cellule considérée que celle-ci est située plus profondément. Les résistances individuelles opposées au mouvement de l'eau par les différentes cellules d'une même rangée radiale s'additionneraient, de sorte qu'à une certaine profondeur l'obstacle deviendrait suffisant pour arrêter tout passage de liquide.

Reprenons l'expérience de Krabbe; mais à défaut de moelle d'*Helianthus,* servons-nous de pétioles de *Begonia heracleifolia,* lesquels, lorsqu'on les coupe longitudinalement en deux moitiés après les avoir dépourvus de l'épiderme, montrent d'une façon frappante la différence de tension existant entre les cellules périphériques et celles du milieu, la courbure se faisant toujours avec sa concavité vers l'extérieur. Le phénomène devient surtout très net lorsque les pétioles ont séjourné quelque temps dans l'eau.

Prenons donc quelques-uns de ces pétioles en les coupant sous l'eau de fusion de la glace; enlevons-leur l'épiderme dans le même milieu, partageons-les en morceaux de 100 millimètres de long et laissons-les dans l'eau à 0°. De vingt-quatre en vingt-quatre heures, coupons un des cylindres longitudinalement par le milieu sur une certaine longueur, toujours la même, en ayant soin de les maintenir, pendant l'opération, dans l'eau à 0°, et rendons-nous chaque fois bien compte du sens et de l'intensité des courbures qui se produisent.

Ces courbures augmentent de jour en jour d'intensité dans le sens normal, jusqu'à un maximum, puis deviennent stationnaires jusqu'à la mort des cellules.

Ceci ne s'explique qu'en admettant que l'eau pénètre dans toutes les cellules du parenchyme, même les plus internes. Sinon, les courbures, au lieu de s'accentuer dans le sens normal caractérisé par la convexité des surfaces de section, devraient diminuer graduellement en intensité, disparaître ou même prendre une direction inverse par suite de l'accroissement de volume qui serait limité dans ce cas aux seules cellules périphériques. L'épaisseur de la couche protoplasmique ne saurait donc constituer un obstacle au passage de l'eau, même à 0°, contrairement à l'opinion de Krabbe, puisque, dans notre expérience, l'eau n'arrive aux cellules profondes qu'après avoir eu à traverser toutes celles qui les séparent de la surface et qui peuvent dépasser de beaucoup la centaine.

On peut nous reprocher que le tissu employé contient des faisceaux fibro-vasculaires, lesquels, bien que très minces, peuvent fausser les résultats. Mais alors, nous recourons à une expérience semblable faite sur la moelle de *Philadelphus*. Ici nous avons assisté, après que les cylindres eussent séjourné pendant quarante-quatre heures dans l'eau à 0°, à une courbure dans le sens de celle observée par Krabbe, les surfaces de section étant donc devenues concaves. Seulement, avant de conclure, nous avons laissé le phénomène se continuer. Or, vingt-quatre heures plus tard, nous n'obtenions plus de courbure du tout : les cellules internes avaient acquis un accroissement de volume tel qu'il n'existait plus de différence entre leur tension et celle des cellules constituant les couches périphériques. L'eau était arrivée jusqu'au centre du tissu. Pourtant, la vitalité des cellules était restée parfaite, comme le montrèrent la plasmolyse bien normale dans une solution concentrée de sucre et l'absence de coloration du protoplasme dans une solution diluée d'éosine.

Dans les expériences qui ont été décrites en dernier lieu, chacune des cellules situées au centre du tissu ne reçoit que de l'eau qui a passé par toutes les cellules qui la séparent de la périphérie. Comme le dit Krabbe (p. 490), tout se passe comme si nous avions affaire, dans chaque cas, à une file de cellules, dont celle de l'une des extrémités se trouve seule en contact avec l'eau.

Si le passage de l'eau dans une cellule supposait une valeur minimum de force osmotique ou de force de filtration, dans un filament de cellules disposé comme l'indique Krabbe, le mouvement de l'eau devrait s'arrêter avant que celle-ci ait pu atteindre la cellule située à l'extrémité opposée. Ceci s'applique aussi à un tissu allongé qui toucherait l'eau par un de ses bouts.

Il ne faut guère songer à faire cette expérience avec de l'eau pure dont on ne saurait suivre le voyage de cellule à cellule. Mais prenons de l'eau dans laquelle nous avons dissous 0,005 % de carbonate d'ammonium. Prenons aussi une lame de verre sur laquelle nous avons fixé, au moyen d'un point de gélatine, une stipule de *Begonia manicata*. Plaçons cette lame de verre dans la solution, de façon que la stipule touche à peine celle-ci par sa surface de section. Comme il est facile de s'en rendre compte par le changement de teinte que subit le suc cellulaire neutralisé par le carbonate, la solution monte, très lentement il est vrai, mais monte continuellement et finit par atteindre le bout opposé de la stipule après avoir passé donc par toutes les cellules séparant les deux extrémités de l'organe et qui, dans nos expériences, atteignaient parfois le nombre de 80.

La même expérience a été répétée à 0°. Afin d'assurer à la stipule cette température constante, il fallait la plonger entièrement dans la solution entourée de glace fondante. Et bien, que les cellules de la stipule aient les membranes fortement cuticularisées, nous prenions néanmoins la précaution de recouvrir l'organe d'une couche de graisse, laissant simplement à nu la surface de section par où devait pénétrer la solution de carbonate. Celle-ci montait encore, mais beaucoup plus lentement : tandis qu'à 18° la solution parcourait, pendant les six premières heures, une distance de 1 millimètre, elle ne parcourait, à 0°, que $^5/_4$ de millimètre en seize heures.

On peut aussi retourner la question et s'assurer si, en mettant, par un bout, dans une solution plasmolysante, un organe formé d'une file de cellules, la plasmolyse finit par se produire dans toutes.

Nous nous sommes servi dans ce but de poils âgés de *Momordica* à membranes cellulaires latérales fortement cuticularisées. Nous plaçions le poil en expérience dans du beurre de cacao, sur une lame de verre, après quoi nous lui coupions le bout aigu. De cette manière, la solution ne pouvait agir que par la cellule mise à nu. On s'arrangeait de façon à n'occasionner qu'un début de plasmolyse. Une fois la plasmolyse terminée dans la première cellule, elle se présentait à son tour dans la deuxième par suite de l'eau qui en sortait vers la première cellule à pression osmotique plus élevée. Mais le courant d'eau continuait dès lors du premier article vers la solution. Le même phénomène se répétait entre le troisième article et le deuxième, et ainsi de suite. Aussi la plasmolyse finissait-elle par se produire dans la dernière cellule, mais, encore une fois, beaucoup plus tard à 0° qu'à 18°.

## § 2. — L'ISOTONISME D'UNE SOLUTION AVEC UN SUC CELLULAIRE SUBSISTE A TOUTE TEMPÉRATURE.

De tout ce qui précède, il résulte que si réellement le protoplasme changeait sa constitution physique suivant la température, comme l'admet Krabbe, celle-ci ne pourrait, néanmoins, et contrairement à l'opinion du même botaniste (p. 488), avoir une influence sur la valeur de la pression osmotique cellulaire, abstraction faite, bien entendu, de l'accroissement de pression de $^1/_{275}$ par degré d'après la loi de van 't Hoff. En d'autres termes, la détermination du pouvoir osmotique d'une cellule par la méthode plasmolytique doit mener toujours au même résultat, quelle que soit la température à laquelle on opère, pourvu que la cellule n'ait pas eu le temps de *réagir,* en vue de son adaptation, à l'augmentation ou à la diminution de pression subie par la solution plasmolysante à la suite même de la modification apportée à sa température (V. R., p. 60). C'est ce que montre d'ailleurs l'évaluation du pouvoir osmotique d'*une* cellule de l'épiderme foliaire de *Tradescantia discolor* à 25° et à 0°.

Voulant donner à cette détermination toute la précision possible, nous ne cherchons pas la solution isotonique avec le suc, d'abord à l'une des températures, puis à l'autre. Il faudrait, en effet, opérer dans ce cas avec *deux* cellules différentes dont le pouvoir osmotique pourrait ne pas être identique. De plus, la plasmolyse se produisant, à 0°, avec une très grande lenteur, la cellule mise en expérience à cette température aurait peut-être le temps de s'adapter, en tout ou en partie, au froid, en rendant son suc plus osmotique (Copeland, pp. 5 et suiv.).

Nous évaluons donc le pouvoir osmotique cellulaire à 10°, et, une fois la plasmolyse terminée, la même cellule est transportée dans un milieu isotonique maintenu à 0°. Nous observons si le degré de plasmolyse ne subit aucune modification, ce qui est effectivement le cas, et ce qui ne serait pas si le pouvoir osmotique cellulaire subissait une modification quelque peu sensible.

## CONCLUSIONS.

1. L'influence de la température sur la perméabilité du protoplasme vivant POUR L'EAU se manifeste surtout pendant les premiers moments de l'expérience.

2. En prenant pour mesure de la perméabilité pour l'eau la vitesse avec laquelle le phénomène se produit alors qu'il est le plus manifeste, nous trouvons :

*a*) Que la perméabilité du protoplasme augmente avec la température, et cela proportionnellement à celle-ci : approximativement de
0,05 par degré jusque vers 5°, . . . . . . . . . . . de
0,45 à partir de cette dernière température jusque 18° environ, de
0,1 pour les températures supérieures à 18°;

*b*) Que les rapports entre la perméabilité du protoplasme pour l'eau à 0° et celle à 6°, 12°, 16°, 20°, 25°, 30° sont sensiblement : 1 . . . 2, 4.5, 6, 7, 7.5, 8.

On arrive approximativement à des résultats analogues avec les différentes cellules mises en expérience et aussi par les différentes méthodes employées: le raccourcissement d'un tissu dans une solution plasmolysante, l'allongement dans l'eau d'un tissu plasmolysé, la détermination du temps que dure, chez une cellule, le phénomène de la plasmolyse ou celui de la « déplasmolyse ».

3. Contrairement à l'opinion de plusieurs botanistes, Schwendener notamment, la perméabilité du protoplasme pour l'eau n'est pas nulle à 0°.

4. La température exerce son influence sur la *rapidité* du mouvement de l'eau à travers le protoplasme, non sur la *quantité totale* de liquide que la cellule est capable d'abandonner ou d'absorber.

5. Les variations de la perméabilité du protoplasme POUR LES SUBSTANCES DISSOUTES, suivant la température, se produisent dans le même sens que celle pour l'eau, et les rapports entre la perméabilité à 0° et celle aux autres températures sont les mêmes que ceux déterminés pour ce liquide.

6. Le protoplasme s'est montré perméable, à 0°, pour le $KNO^3$, la glycérine, l'urée, le bleu de méthylène, la caféine, le carbonate d'ammonium. L'opinion de Krabbe, d'après laquelle, à une température inférieure à 5°, le protoplasme ne se laisserait plus traverser que par l'eau, n'est donc pas fondée.

7. Le fait que la perméabilité du protoplasme augmente, sous l'influence de la température, plus fortement que ne le fait celle d'une membrane précipitée de ferrocyanure de cuivre, ne permet pas de voir, par cela seul, dans les changements de la perméabilité protoplasmique, une action vitale, comme Krabbe l'admet.

8. La perméabilité du protoplasme pour l'eau ne suppose pas, comme l'admet encore ce botaniste, l'existence d'un minimum d'excès

osmotique ou d'un minimum de force de filtration au-dessous desquels le phénomène n'aurait plus lieu. La perméabilité se manifeste, comme pour les membranes précipitées de Pfeffer, pour tout excès osmotique, si faible soit-il, et pour toute force de filtration se rapprochant même de O. Dès lors, et à défaut d'un moyen pour mettre le fait en évidence, on peut admettre que l'eau pure entre dans la cellule et en sort sans le concours d'un excès osmotique même très faible.

9. La constitution physique de la couche protoplasmique n'a pas d'influence sur la quantité totale d'eau que peut abandonner ou absorber une cellule.

10. La qualité de l'utricule protoplasmique n'a pas non plus d'influence sur la valeur de la pression osmotique cellulaire.

11. A l'inverse de ce que soutient Krabbe, une cellule dont le suc cellulaire est isotonique avec une solution donnée à une certaine température, demeure isotonique avec la même solution à toute autre température, *pourvu qu'il n'y ait point, par adaptation, de changement apporté à la composition du suc.* La pression osmotique cellulaire ne varie donc, comme celle d'une solution, que de $^1/_{273}$ par degré centigrade.

Le présent travail, entrepris sur le conseil de M. le professeur Pfeffer, a été fait, en grande partie, et en même temps que d'autres recherches, à son Institut de Leipzig, pendant le semestre d'hiver 1898-1899. Quelques-unes des expériences décrites ont été exécutées à l'Institut botanique de l'Université de Bruxelles.

Nous saisissons ici l'occasion pour remercier bien cordialement M. Pfeffer des précieux conseils qu'il n'a cessé de nous prodiguer, ainsi que de l'extrême bienveillance avec laquelle il a mis à notre disposition son merveilleux laboratoire et sa riche bibliothèque.

# BIBLIOGRAPHIE.

1873. BARANETZKY, *Untersuchungen über d. Periodicität d. Blutens.* (ABHANDL. D. NATURFORSCH. GESELLSCH. ZU HALLE, Bd XIII.)

1876. BROSIG, *Die Lehre der Wurzelkraft.*

1896. COPELAND, *Ueber den Einfluss von Licht und Temperatur auf den Turgor.* (INAUG. DISSERT., Halle.)

1833. DE CANDOLLE, *Pflanzenphysiologie* (traduct. de Röper).

1874. DETMER, *Die Theorie der Wurzelkraft.* (MITTHEIL. A. D. GESAMMTGEBIETE DER BOTANIK, Bd I.)

1887. DETMER, *Beiträge zur Theorie des Wurzeldrucks.* (SAMMLUNGEN PHYSIOLOGISCHER ABHANDLUNGEN VON PREYER, Reihe I, Heft 8.)

1895. DIXON and JOLY, *The path of the transpiration-current.* (ANNALS OF BOTANY, Bd IX, p. 403.)

1764. DUHAMEL, *De l'exploitation des bois.*

1889. EBERDT, *Die Transpiration der Pflanzen und ihre Abhängigkeit von äusseren Bedingungen.*

1900. ERRERA, *Remarques sur la toxicité moléculaire de quelques alcools.* (BULL. DE LA SOC. ROY. DES SC. MÉDIC. ET NATUR. BRUXELLES, 1900, p. 25.)

1901. ERRERA, *Sur la* MYRIOTONIE *comme unité dans les mesures osmotiques.* (BULL. DE L'ACAD. ROY. DE BELGIQUE, 1901, III, p. 135.)

1839. GÖPPERT, *Ueber Wärmeentwickelung in den Pflanzen.*

1748. HALES, *Statick der Gewächse.*

1862. HOFMEISTER, *Ueber Spannung, Ausflussmenge und Ausflussgeschwindigkeit von Säften lebender Pflanzen.* (FLORA, p. 97.)

1888. JANSE, *Die Permeabilität des Protoplasmas.* (VERSL. EN MEDEDEEL. D. KONINKL. AKAD. VAN WETENSCH. VAN AMSTERDAM, afdeel. Natuurkunde, reeks III, deel IV, bl. 332.)

1890. KIHLMAN, *Pflanzenphysiologische Studien aus Russisch- Lappland.*

1811. KNIGHT und TREVIRANUS, *Beiträge zur Pflanzenphysiologie.*

1896. KRABBE, *Ueber den Einfluss der Temperatur auf die osmotische Processe lebender Zellen.* (PRINGSHEIM'S JAHRB., Bd XXIX, p. 441.)

1886. KOHL, *Die Transpiration der Pflanzen.*

1895. KOLKWITZ, *Untersuchungen über Plasmolyse, Elasticität, Dehnung und Wachstum an lebendem Markgewebe.* (INAUG. DISSERT. Berlin.)

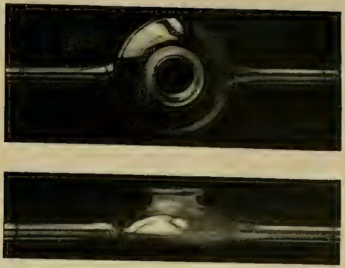


FIG. 3

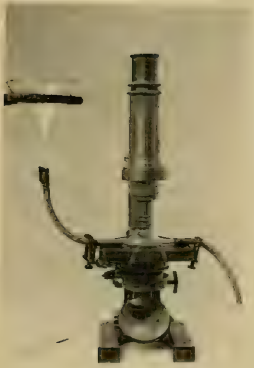


FIG. 4.

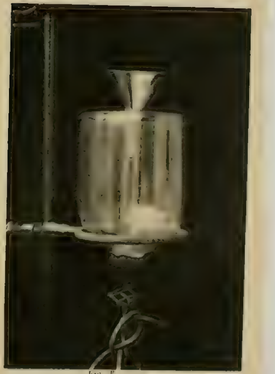


FIG. 5.

1897. KOSAROFF, *Einfluss verschiedener äusserer Factoren auf die Wasseraufnahme der Pflanzen.* (INAUG. DISSERT., Leipzig.)

1898. NERNST, *Theorische Chemie,* 2e Aufl.

1874. NÖRDLINGER, *Deutsche Forstbotanik,* I.

1877. PFEFFER, *Osmotische Untersuchungen,* Leipzig.

1886. PFEFFER, *Ueber Aufnahme von Anilinfarben in lebenden Zellen.* (UNTERS. A. D. BOT. INST. Tübingen, Bd II, p. 179.)

1890. PFEFFER, *Zur Kenntniss der Plasmahaut und der Vacuolen.* (ABHANDL. D. MATHEM.-PHYS. CL. D. KÖNIGL. SÄCHS. GESELLSCH. D. WISSENSCH., Bd XVI, p. 187.)

1897. PFEFFER, *Pflanzenphysiologie,* 2e Aufl.

1860 SACHS, *Beiträge zur Lehre von der Transpiration der Gewächse.* (BOT. ZEIT., p. 123.)

1892. SCHWENDENER, *Zur Kritik der neuesten Untersuchungen über das Saftsteigen.* (SITZUNGSBER. D. KÖNIGL. PREUSS. AK. D. WISSENSCH. ZU BERLIN, p. 911.)

1865. SCHRÖDER, *Untersuchungen der chemischen Constitution des Frühjahrssaftes der Birke,* etc. (ARCHIV FÜR D. NATURKUNDE LIV-EST- und KURLAND'S, 2e Serie, Bd VII.)

1870. SCHRÖDER, *Beiträge zur Kenntniss der Frühjahrsperiode des Ahorn.* (PRINGSHEIM'S JAHRB., Bd VII.)

1800. SENEBIER, *Physiologie végétale.*

1895. STENSTRÖM, *Ueber das Vorkommen derselben Arten in verschiedenen Standorten,* etc. (FLORA, Bd LXXX, p. 117; Nachtrag, IBID., p. 421.)

1899. VAN RYSSELBERGHE, *Réaction osmotique des cellules végétales à la concentration du milieu.* (MÉMOIRES PUBLIÉS PAR L'ACAD. ROY. DE BELGIQUE, t. LVIII.)

1898. VAN RYSSELBERGHE, *Het osmotisch vermogen van plantencellen en de concentratie der omgevende vloeistof.* (HANDELINGEN VAN HET EERSTE VLAAMSCH NATUUR- EN GENEESKUNDIG CONGRES, GEHOUDEN TE GENT IN 1897.)

1877. VESQUE, *De l'influence de la température du sol sur l'absorption de l'eau par les racines.* (ANN. DES SC. NATUR., sér. VI, t. VI, p. 237.)

1893. WIELER, *Das Bluten der Pflanzen.* (COHN'S BEITRÄGE, Bd VI, p. 1.)

# RECHERCHES SUR LES ORGANISMES INFÉRIEURS

# V. — SUR LE PROTOPLASME DES SCHIZOPHYTES

PAR

**Jean MASSART**

PROFESSEUR A L'UNIVERSITÉ DE BRUXELLES
ASSISTANT A L'INSTITUT BOTANIQUE (1)

## INTRODUCTION.

Peu de questions ont été autant discutées que celle de la présence ou de l'absence d'un vrai noyau chez les Schizophytes.

L'intérêt de cette question est multiple. D'abord existe-t-il, oui ou non, des êtres constitués entièrement par des cellules sans noyau? Les méthodes d'investigation, en se perfectionnant, ont fait découvrir un noyau chez des organismes de plus en plus petits; et le groupe des Schizophytes est, en somme, le seul dans lequel le noyau soit encore douteux. En dehors de l'importance purement intrinsèque de la question, il faut considérer que sa solution jetterait de la lumière sur la classification — toujours très controversée — des organismes inférieurs et aussi, par conséquent, sur la phylogénie des plantes et des animaux.

---

(1) Ce travail, adressé à la Classe des sciences de l'Académie royale de Belgique en réponse à la question de concours : *Existe-t-il un noyau chez les Schizophytes* (Schizophycées et Schizomycètes)? *Dans l'affirmative, quelle est sa structure et quel est son mode de division?*, a été couronné par elle dans sa séance du 16 décembre 1900. Il paraît simultanément ici et dans les *Mémoires couronnés et autres mémoires* in-8° de l'Académie, t. LXI, 1901. L. E.

Laissant de côté l'étude du glycogène et des autres substances de réserve que contient la cellule, je me suis surtout occupé de l'organe qui peut être comparé à un noyau, c'est-à-dire du corps central et des granulations qui se colorent comme lui. Comme le corps central manque chez les Bactéries, je ne m'attarderai pas beaucoup à celles-ci.

Dans les pages suivantes, j'exposerai d'abord les faits tels que je les ai observés. Cette partie pourra être abrégée, grâce aux figures remplaçant les descriptions. Un deuxième chapitre sera consacré à l'interprétation des faits. Enfin, j'essaierai d'appliquer les résultats de ces recherches à la classification des Protoorganismes.

Lorsque le présent mémoire fut soumis à l'appréciation des membres de l'Académie, je n'avais pu examiner que très peu de Thiobactéries. Pendant que le laboratoire ambulant de biologie de l'Université de Bruxelles était installé à Coxyde, en juillet et août 1900, j'eus heureusement l'occasion d'étudier un grand nombre de Bactéries sulfuraires.

J'ai pu aussi compléter mon travail par l'étude de nombreuses Oscillatoriacées et Nostocacées, récoltées à Coxyde et à Nieuport, et surtout par l'étude du *Chamaesiphon confervicola*, rencontré à tous les stades de son développement, dans un ruisseau, à Genck (Campine limbourgeoise).

Tome V, 1901.

# SUR LE PROTOPLASME DES SCHIZOPHYTES

## I. — OBSERVATION DES FAITS.

### A. — MÉTHODE.

Les divergences des résultats indiqués par les divers observateurs tiennent en grande partie à l'emploi de fixateurs peu appropriés. Les Schizophytes, surtout les Schizophycées, ont un protoplasme fort délicat, que les soi-disant fixateurs désorganisent ou modifient presque à chaque coup.

J'ai toujours examiné les organismes vivants. Afin de mieux mettre en évidence la structure intime du protoplasme, je plaçais les cellules dans une grande quantité de solution aqueuse diluée de bleu de méthylène ($^{1}/_{100\,000}$ à $^{1}/_{10\,000}$). Par ce procédé, déjà employé avec succès par d'autres observateurs, notamment par M. Palla (1893, p. 535) et par M. Lauterborn (1895, p. 9), on obtient une coloration très vive de certaines parties strictement déterminées de la cellule. Et pourtant celle-ci reste vivante; ainsi, par exemple, des trichomes de Lyngbyées, dont tous les corps centraux sont colorés, continuent à osciller d'une façon normale.

L'emploi de ce procédé n'offre aucune difficulté. Avec un peu de patience, on arrive, par des tâtonnements successifs, à déterminer pour chaque cas particulier quelle est la meilleure dilution, et combien d'heures il faut laisser agir le colorant : telle espèce, par exemple *Merismopedia elegans,* ne se colore bien que par un séjour de vingt-quatre à quarante heures dans du bleu de méthylène à $^{1}/_{100\,000}$, tandis que dans les gonidies de *Peltigera canina*, le corps central apparaît le plus clairement lorsqu'elles sont restées une heure à peine dans la solution à $^1/_{10\,000}$. La réussite est fort difficile avec les *Gloeocapsa*, les *Gloeothece*, les *Aphanothece* et les autres Chroococcacées dont les cellules sont entourées d'une couche gélatineuse dense, dans laquelle la matière colorante est arrêtée.

Le seul reproche que l'on puisse faire à la méthode, c'est qu'il est impossible de conserver les préparations dans cet état. Par aucun moyen, je ne suis parvenu à fixer le bleu de méthylène dans la cellule : j'ai essayé en vain le tannin, le molybdate d'ammonium, le chlorure mercurique, l'alun, le chromate jaune de potassium, le bichromate de potassium...; toujours, après quelques jours de conservation dans la glycérine, la matière colorante avait diffusé dans toute la cellule. Le résultat est un peu meilleur quand on prend, au lieu de glycérine, du formol à $^1/_{20}$; mais au bout d'une quinzaine de jours, les préparations sont également perdues. Le seul moyen pratique consiste à traiter les cellules, colorées au bleu de méthylène, par une solution aqueuse de picrate d'ammonium à $^1/_{200}$. On laisse agir une demi-heure au moins; après lavage par l'eau, on monte au formol à $^1/_{20}$. De telles préparations se conservent fort bien; malheureusement, la teinte violette, prise par le corps central, est loin d'être aussi favorable que la couleur bleue primitive.

Le montage au baume permet de conserver assez bien la coloration du corps central; mais dans ce milieu trop réfringent beaucoup de détails disparaissent.

On obtient aussi de bonnes colorations en employant, non pas la solution diluée de bleu de méthylène neutre, mais une solution beaucoup plus concentrée de bleu de méthylène alcalin (bleu de méthylène polychrome). J'ai utilisé directement la solution telle que la fournit M. Grübler (à Leipzig). Après lavage à l'eau, on passe les cellules dans une solution aqueuse à $^1/_{200}$ de chromate jaune de potassium. Enfin, on monte au formol à $^1/_{20}$. Toute la série des opérations est terminée en une heure au plus.

Je n'ai pas besoin d'ajouter que j'ai aussi employé les méthodes ordinaires de fixation et de coloration, notamment la fixation à l'alcool, au sublimé, à l'acide chromique, à l'acide osmique, à l'acide picrique, etc., et la coloration par les divers carmins et hématoxylines, et par le vert de méthyle acétique. Lorsque je comparais ensuite les résultats obtenus par ces moyens avec ceux que me donnait l'emploi de bleu de méthylène *in vivo*, je revenais toujours à ce dernier procédé.

Encore un mot. Pendant plusieurs années, j'avais récolté un peu partout, particulièrement à Java, des Algues et des Cyanophycées avec l'intention d'étudier surtout ces dernières. Les matériaux, fixés vivants par le liquide chromo-acétique (eau 1,000, acide chromique 7, acide acétique 3), étaient ensuite lavés à l'eau, puis conservés dans des flacons avec du formol à $^1/_{20}$.

Les Algues, même les plus délicates, comme les Zygnématacées et les Desmidiacées, étaient admirablement conservées : après six ans, elles se laissent encore étudier comme au premier jour. Mais on ne peut plus rien faire des Schizophycées. J'ai perdu ainsi un excellent matériel comprenant surtout de gros *Stigonema*, des *Rivularia* et les belles Scytonématacées qui forment les gonidies de lichens javanais.

Les matériaux d'herbier ne sont pas non plus utilisables pour l'étude de la structure protoplasmique. Je recommande fort aux botanistes qui ont l'occasion de récolter des Schizophycées intéressantes, de les mettre vivantes pendant une douzaine d'heures dans une grande quantité de bleu de méthylène à $^1/_{50000}$, et de les plonger ensuite dans de petits flacons contenant une solution à $^1/_{200}$ de picrate d'ammonium (solution à peu près saturée). Le matériel ainsi traité se garde fort longtemps. Peut-être rendrait-on la conservation encore plus parfaite par le procédé suivant : Après coloration par le bleu de méthylène, laisser les organismes une heure dans le picrate, les laver complètement et les mettre ensuite dans du formol à $^1/_{20}$ dans des flacons entièrement remplis et bien bouchés.

## *B.* — LISTE DES ORGANISMES ÉTUDIÉS.

La classification suivie est pour les Bactéries et les Thiobactéries, celle de M. Migula (1898-99); pour les Schizophycées, celle de M. Kirchner (1898).

### I. SCHIZOMYCÈTES.

### *A.* Bactéries.

1. COCCACÉES.
   - *Streptococcus mesenteroides* Mig.
   - *Sarcina ventriculi* Goodsir.
2. BACTÉRIACÉES.
   - *Bacillus Megaterium* De Bary (fig. 1, 2).
   - *B. oxalaticus* Zopf.
   - *B.* très grand, trouvé à Coxyde (fig. 4).

3. Spirillacées.
   - *Spirosoma* marin, très grand.
   - *Spirillum Undula* Ehr.
   - *Spirochaete plicatilis* Ehr.

4. Chlamydobactériacées.
   - *Chlamydothrix ochracea* Mig.
   - *C. ferruginea* Mig.
   - *C. fluitans* Mig. (fig. 3).
   - *Sphaerotilus dichotomus* Mig.

*B*. **Thiobactéries.**

1. Beggiatoacées.
   - *Thiothrix tenuis* Winog.
   - *Beggiatoa alba* Trevisan.
   - *B. leptomitiformis* Trevisan (fig. 5).
   - *B. torulosa n. s.* (fig. 6).
   - *B. mirabilis* Cohn.

2. Achromatiacées.
   - *Achromatium oxaliferum* Schewiakoff (fig. 7).

3. Rhodobactériacées.
   - *Thiocystis violacea* Winog.
   - *Lamprocystis roseo-persicina* Schröter.
   - *Thiopedia rosea* Winog.
   - *Chromatium Weissii* Perty.
   - *C. minus* Winog.
   - *C. minutissimum* Winog.
   - *C. vinosum* Winog.
   - *Thiospirillum violaceum* Warming.

**II. SCHIZOPHYCÉES.**

1. Chroococcacées.
   - *Chroococcus*, *Gloeothece* et *Aphanotece, div. sp.*
   - *Gomphosphaeria aponina* Kütz.
   - *Coelosphaerium Kützingianum* Nägeli.
   - *Merismopedia elegans* A. Braun.
   - *M. glauca* Nägeli.

2. Chamésiphonacées.
   - *Chamaesiphon confervicola* A. Braun (fig. 20).

3. Oscillatoriacées.
   - *a*) Lyngbyées.
     - *Symploca cartilaginea* Gomont.
     - *Lyngbya aestuarii* Liebman.

*L. putealis* Montagne (fig. 17).
*L. aerugineo-caerulea* Gomont (fig. 18).
*L. versicolor* Gomont (fig. 19).
*Phormidium fragile*(?) Gomont (fig. 11).
*P. tenue* Gomont (fig. 15).
*P. papyraceum* Gomont (fig. 16).
*P. autumnale* Gomont (fig 12, 13, 14).
*Oscillatoria princeps* Vaucher.
*O. curviceps* Agardh.
*O. sancta* Kütz.
*O. nigro-viridis* Thwaites.
*O. irrigua* Kütz. (fig. 8).
*O. simplicissima* Gomont (fig. 9).
*O. tenuis* Agardh.
*O. chlorina* Kütz.
*O. laetevirens* Crouan.
*O. formosa* Bory.
*O. Okeni*(?) Agardh.
*O. chalybea* Mertens (fig. 10).
*O. Boryana* Bory.
*Arthrospira Jenneri* Stitzenberger.
*Spirulina major* Kütz.

*b*) Vaginariées.
*Microcoleus chthonoplastes* Thuret.
*M. vaginatus* Gomont.

4. NOSTOCACÉES.
*Nostoc rivulare* Kütz.
*N. spongiaeforme* Agardh. (fig. 21).
*N. commune* Vaucher.
*N. sphaericum* Vaucher (fig. 22).
*Anabaena variabilis* Kütz. (fig. 23).
*A. oscillarioides* Bory.
*Cylindrospermum stagnale* Bornet et Flahault.
Nostocacées fonctionnant comme gonidies dans un *Collema* et dans le *Peltigera canina* (fig. 24).

5. SCYTONÉMATACÉES.
*Scytonema cincinnatum* Thuret (fig. 25).
*S. Hofmanni* Agardh.
*S. Myochrous* Agardh. (fig. 26).
*Tolypothrix tenuis* Kütz. (fig. 27).

6. STIGONÉMATACÉES.
*Hapalosiphon pumilus* Kirchner.
*Stigonema panniforme* Hieronymus.

7. Rivulariacées.
*Calothrix fusca* Bornet et Flahault.
*Dichothrix Baueriana* Bornet et Flahault (fig. 30).
*Rivularia sp.* (fig. 28).
*R. natans* Welwitsch (fig. 29).

La plupart des organismes ont été récoltés par moi-même. La détermination était faite à l'aide des monographies de MM. Bornet et Flahault (1886 à 1888), de M. Gomont (1892) et de M. Migula (1898-1899). J'en dois aussi plusieurs à divers savants; je suis heureux de pouvoir ici exprimer ma gratitude à MM. Flahault, Gravis et Van Rysselberghe. Enfin, j'ai acheté quelques organismes chez M. Bolton et chez M. Kral.

## C. — SCHIZOMYCÈTES.

*a*) Bactéries proprement dites. — La cellule des Bactéries est toujours enfermée dans une membrane. En outre, il y a, chez les Chlamydobactéries, une gaine plus ou moins résistante.

Chez les formes les plus ténues, par exemple *Streptococcus mesenteroides*, le protoplasme paraît tout à fait homogène. L'est-il en réalité, ou bien nos moyens optiques sont-ils encore insuffisants pour nous permettre de voir les granulations?

Dans les cellules de *Sarcina,* le traitement au bleu de méthylène sur le vivant fait voir quelques grains plus colorés. Dans les gros *Bacillus* et *Spirillum,* les granulations sont encore plus évidentes.

Ainsi que l'a déjà décrit M. Migula pour le *B. oxalaticus* (1894, p. 4), pour le *B. asterosporus* et d'autres espèces (1898, p. 147), les granulations n'existent pas dans la cellule très jeune. Lors de la germination de la spore de *B. Megaterium*, le protoplasme est tout à fait homogène. Dans les cellules un peu plus âgées, certaines parties deviennent plus bleues que d'autres (fig. 1). Plus tard, chaque cellule contient plusieurs petits grains qui se rassemblent finalement en une grosse masse unique placée vers le milieu de la cellule. C'est autour de cette grosse granulation que se condense le protoplasme destiné à former la spore (fig. 2). D'après de Bary (1884, p. 502), dans la cellule de *B. Megaterium* où une spore va se former, on voit apparaître un gros grain qui, en grandissant, devient la spore. Dans un travail tout récent (1900, p. 75), M. Certes a employé aussi la méthode de la coloration sur le vivant, méthode dont il est l'inventeur, pour étudier la formation des spores chez le *Spiroba-*

*cillus gigas :* les spores seraient le produit de la condensation de la matière chromatique, qui était d'abord diffuse dans la cellule. Ces observations sur le développement des spores concordent avec celles de M. Migula (1898, p. 149).

Pour la structure protoplasmique du *B. oxalaticus*, je ne puis que confirmer ce que M. Migula (1894) a décrit. Les vacuoles se voient encore mieux dans le *Spirillum Undula* et dans un très gros Bacille que j'ai rencontré à Coxyde (fig. 4) ainsi que dans un *Spirosoma* marin.

Dans les cellules adultes de *Spirillum Undula,* les grains colorés par le bleu de méthylène sont nombreux et disposés plus ou moins suivant l'axe de la cellule.

Chez le *Chlamydothrix*, le nombre des granulations est très variable (fig. 3) : tantôt elles sont tellement abondantes qu'elles remplissent les cellules; tantôt elles sont agglomérées sans ordre. Mais pas plus que chez les *Bacillus* ou les *Spirillum,* on ne parvient à distinguer quelque chose qui les réunisse : les grains sont isolés dans le protoplasme, complètement séparés les uns des autres ; ils ne sont pas, comme chez les Schizophycées, reliés par une substance qui se colore moins que les grains, mais plus que le protoplasme périphérique. En d'autres termes, il n'y a pas ici de « corps central »; il n'y a que des granulations analogues à celles qui, chez les Schizophycées, se rencontrent à l'intérieur du corps central.

*b*) Thiobactéries. — Dans ses traits essentiels, la cellule des Thiobactéries a la même constitution que celle des Bactéries proprement dites. Pas plus que chez ces dernières, il n'existe ici de corps central [1] (fig. 5, 6, 7). Or, chez les Sulfuraires, les cellules sont parfois assez grandes pour qu'aucun doute ne puisse subsister quant à leur structure : chez *Beggiatoa mirabilis*, j'ai étudié des cellules de 16 μ de diamètre; celles d'*Achromatium* [2] avaient jusque 20 μ (fig. 7). Jamais je n'ai aperçu la moindre trace de corps central : les grains qui se colorent par le bleu de méthylène et par des autres colorants (hématoxyline de Delafield, etc.) sont répartis également dans tout le cytoplasme (fig. 5, 6, 7).

---

[1] L'aspect représenté par les figures 6*a* et 6*c* est dû à de la contraction protoplasmique.

[2] L'*Achromatium oxaliferum* est certainement une Thiobactérie. Les petits grains, très réfringents, qui sont engagés dans le réseau protoplasmique, sont du soufre. Les cellules ont des mouvements lents et oscillants, qui rappellent ceux des *Beggiatoa.* L'absence de bactériopurpurine les rapproche des Beggiatoacées; mais le fait que les cellules s'isolent dès qu'elles sont formées, m'engage à créer une famille spéciale pour les *Achromatium*.

La vacuole centrale est très nette, au moins dans les grosses formes. Dans le filament de *B. mirabilis*, elle atteint une largeur de 11-12 μ. Dans la cellule d'*Achromatium* (fig. 7), la vacuole est subdivisée par les travées protoplasmiques réticulées qui traversent de toutes parts la cellule; elle contient une substance qui, contrairement à ce que dit M. Schewiakoff (1892), n'est certainement pas de l'acide oxalique ni un sel de calcium.

M. Schewiakoff figure aussi une magnifique structure alvéolaire (pl. II). Il y aurait, d'après lui, chez *Achromatium*, comme chez les Schizophytes étudiés par M. Bütschli (1890 et 1896), de grands « alvéoles » centraux entourés d'une rangée de tout petits alvéoles : l'ensemble des grands alvéoles constitue le corps central; les petits alvéoles forment le cytoplasme. En réalité, la couche périphérique de petits alvéoles n'existe pas. J'ai étudié l'organisme en innombrables exemplaires, les uns frais, les autres colorés vivants par le bleu de méthylène; d'autres avaient été fixés par divers moyens et colorés par les réactifs indiqués par M. Schewiakoff; j'ai aussi étudié des individus que j'avais cultivés de façon à leur faire perdre les substances qui encombrent les vacuoles, et je les ai légèrement plasmolysés pour mettre en évidence la couche périphérique : jamais je n'ai obtenu le moindre résultat conforme aux idées de M. Bütschli et de M. Schewiakoff. Je pense donc que, même pour cette immense cellule, il faut renoncer à l'espoir de trouver un corps central.

Chez toutes les Thiobactéries, les grains de soufre sont répandus uniformément à travers le cytoplasme. Par l'emploi de la méthode indiquée par M. Fischer (1897, p. 75) (dessiccation et flambage des cellules sur la lamelle et immersion dans le baume), les grains de soufre disparaissent aussitôt chez *Thiospirillum violaceum* et chez *Chromatium Weissii*. Seulement la coloration de la cellule est toujours restée uniforme : jamais je n'ai pu observer la concentration de la couleur dans les vacuoles laissées par la dissolution du soufre (voir Fischer, pl. III, fig. 58), même après vingt-deux heures de séjour dans le baume. Comme ce point ne m'intéressait guère, je n'ai pas recherché quelle était la cause de ces divergences.

Les Thiobactéries filamenteuses ont souvent les cloisons transversales fort peu distinctes (voir Winogradsky, 1888, pl. I). Chez celles que j'ai étudiées, les cloisons n'étaient bien visibles que dans les filaments de *Beggiatoa torulosa* [1]. Le *B. leptomitiformis* montre nettement des cloisons protoplasmiques qui découpent le filament, mais la cloison solide fait presque toujours défaut (fig. 5). Chez le *B. mirabilis*, c'est à peine si la large vacuole qui occupe tout le milieu du filament est interrompue de loin en loin par une cloison protoplasmique : l'iode ni aucun autre réactif n'y fait apparaître une membrane. Les filaments de *Thiothrix tenuis* que j'ai pu étudier à tous les stades de développement, — sur des Daphnies, à Coxyde, — ne montrent de cloisons qu'à leur bout distal, lorsque l'individu est devenu assez âgé pour former des conidies.

## *D.* — SCHIZOPHYCÉES.

### § 1. — Structure des cellules végétatives adultes au repos.

La structure de la cellule est moins simple chez les Schizophycées que chez les Schizomycètes. Cette complexité plus grande tient sans doute au fait que le protoplasme porte une chromophylle capable d'assimiler le carbone lorsqu'elle est exposée à la lumière : il est donc avantageux que la matière colorante se localise à la périphérie de la cellule, laissant libre la partie centrale.

Avant d'étudier avec quelques détails la couche corticale pigmentée et le corps central, voyons rapidement quelques éléments moins importants de la cellule.

1. *Membrane.* — Les cellules sont toujours entourées d'une membrane non cellulosique; souvent il y a aussi une gaine gélatineuse, plus ou moins ferme.

2. *Communications protoplasmiques.* — Le *Stigonema panniforme* et le *Hapalosiphon pumilus* présentent sur chaque paroi transversale une ponctuation par laquelle passe un prolongement protoplasmique unissant la cellule à ses voisines. Au nombre de deux pour les cellules ordinaires, ces perforations sont au nombre de trois pour celles qui

---

[1] Cette espèce, que j'ai rencontrée à Genck (Campine limbourgeoise), se distingue aisément des autres *Beggiatoa* par le bombement des parois cellulaires.

occupent la base des rameaux, et aussi, chez le *Stigonema*, pour celles qui se trouvent dans les portions massives des trichomes. Elles ont déjà été décrites et figurées par M. Wille (1883, p. 245).

Je regrette beaucoup de n'avoir plus eu à ma disposition des Stigonématacées vivantes; les seules que je possédais avaient été tuées par la liqueur chromo-acétique, et il n'était plus possible d'y étudier les détails. Je crois, néanmoins, pouvoir affirmer que les ponctuations résultent de ce fait que les cloisons, qui sont à développement centripète (de même que chez les autres Schizophytes), n'atteignent pas l'axe de la cellule. En d'autres termes, il n'y a ici que des communications primaires. Il aurait été fort curieux aussi d'étudier par quoi est constitué le prolongement protoplasmique.

3. *Vacuoles à gaz* [1]. — J'ai rencontré des vacuoles gazeuses dans *Coelosphaerium Kützingianum*, *Phormidium fragile* (?) [2] et un *Anabaena* non déterminable. Dans les cellules de *Coelosphaerium*, les vacuoles ont l'aspect et la position qu'indique M. Klebahn (1895). Chez le *Phormidium*, les nombreuses petites vacuoles se trouvent pour la plupart dans le corps central (fig. 11*a*). On s'en assure le mieux sur les cellules colorées au bleu de méthylène (fig. 11*b*). Dans l'*Anabaena*, elles sont également dans le corps central. Les hétérocystes n'en contiennent pas, ce qui souligne encore la relation entre les vacuoles et le corps central.

4. *Vacuoles à suc cellulaire.* — La présence de vacuoles indique que la cellule est non seulement adulte, mais qu'elle est déjà devenue incapable de se diviser.

---

[1] M. Brand (1901) met en doute la nature gazeuse du contenu de ces organelles. Les arguments qu'il invoque ne me semblent pas être de nature à ébranler ceux de M. Klebahn.

[2] Cette plante formait d'abondantes « fleurs d'eau », ayant l'apparence d'une poussière vert glauque, sur une mare dans le bois de la Basse-Marlagne, près de Namur. Ces trichomes sont collés parallèlement les uns aux autres en petits faisceaux qui se désagrègent quand on les presse entre la lame et la lamelle. Ils ne possèdent ni hétérocystes ni spores. Par ces divers caractères, ils rappellent le *Trichodesmium lacustre* Klebahn, que l'auteur rapproche, avec doute, du genre *Aphanizomenon* (p. 272). Par la forme conique de la cellule apicale et par l'absence de coiffe, ainsi que par les caractères généraux du trichome et de la gaine gélatineuse, notre plante se rapproche beaucoup du *Phormidium fragile* Gomont (Gomont, vol. XVI, p. 163); disons pourtant qu'elle a les cellules plus grosses et plus arrondies.

Les Schizophycées à cellules isolées (Chroococcacées) et celles dans les trichomes desquelles les cellules se divisent partout (Oscillatoriacées, Nostocacées) sont toujours dépourvues de vacuoles. Celles-ci ne se rencontrent que dans les Schizophycées où la néoformation cellulaire est plus ou moins localisée dans une région déterminée du trichome (Scytonématacées, Stigonématacées, Rivulariacées) : dans les portions adultes du trichome, les vacuoles sont nombreuses, et l'on peut facilement se rendre compte de leur développement en suivant la série des cellules depuis la région de « méristème » jusqu'à la région adulte. Plusieurs vacuoles, très petites, apparaissent dans chaque cellule; elles grandissent et confluent Dans les cellules qui forment le poil incolore des trichomes des Rivulariacées (fig. 29, 30), les vacuoles sont toutes dans la couche corticale; il en est de même pour les Stigonématacées. Au contraire, chez le *Scytonema cincinnatum*, les vacuoles sont dans le corps central (fig. 25).

5. *Glycogène.* — Cette substance, indiquée en premier lieu chez les Schizophycées par M. Errera (1882), est très abondante chez certaines espèces, en particulier dans le corps central, ainsi que le dit M. Zacharias (1900, p. 18). Ailleurs, le glycogène est répandu irrégulièrement dans tout le protoplasme, par exemple dans le *Phormidium autumnale.*

6. *Couche pigmentée.* — Le pigment assimilateur est un mélange de chlorophylline et de phycocyanine.

Les pigments n'existent que dans la couche corticale du protoplasme. Déjà sur le frais, il est facile de s'en assurer; et la chose devient encore beaucoup plus évidente lorsque les cellules ont été colorées par le bleu de méthylène. La zone périphérique garde exactement sa teinte primitive, ou ne prend qu'une très faible teinte bleue, tandis que la partie centrale, qui ne portait pas de pigment, absorbe fortement le bleu de méthylène.

La faible colorabilité de la couche périphérique ne tient pas simplement au fait qu'elle est imprégnée de pigment assimilateur. En effet, il y a des Schizophycées dont les cellules sont à peu près incolores, ce qui ne doit pas trop nous étonner, puisque ces organismes ne sont certainement pas des holophytes purs, mais peuvent tous éventuellement se nourrir de matières organiques. Ainsi, mes exemplaires de *Symploca cartilaginea*, de *Lyngbya versicolor* (fig. 19) et de *Phormidium autumnale* cultivés sur agar (fig. 13) étaient complètement hyalins. Pourtant, la portion périphérique se colorait aussi peu que chez les espèces les plus pigmentées.

Lorsque les cellules sont arrondies, les pigments imprègnent toute la couche périphérique, entourant la portion centrale à la façon d'une sphère creuse. En est-il de même dans les cellules discoïdes, comme celles des Oscillatoriacées et des Scytonématacées? La chose a été mise en doute par M. Fischer (1897, pp. 28 et 29, et pl. I, fig. 15 à 18) : il admet qu'ici la couche pigmentée ne s'étend pas sur les faces transversales des cellules, et il lui attribue donc la forme d'un cylindre creux. M. Fischer s'appuie sur l'isolement du « chromatophore » au moyen d'acide fluorhydrique. D'après M. Zacharias (1900, p. 5), cette réaction est loin d'être infaillible; il fait, du reste, observer que certaines figures de M. Fischer (1897, fig. 15 et 16) ne confirment pas du tout son opinion.

J'ai obtenu par hasard, chez *Oscillatoria irrigua* et *O. princeps*, la destruction de tout ce qui est à l'intérieur de la couche pigmentée. A l'aide d'eau de javelle, je voulais dissoudre complètement le protoplasme de façon à ne laisser que les membranes, suivant la méthode préconisée par M. Gomont (1892, vol. 15, p. 273). Mais mon eau de javelle était trop vieille : toutes les granulations et le corps central furent seuls dissous, de façon que la couche corticale, légèrement contractée, persista. Dans la même préparation, il y avait aussi des Diatomées qui subirent le même sort (fig. 8*b*) : leurs plastides se conservèrent à peu près intactes, avec quelques restes informes du noyau. Sur les *Oscillatoria* (fig. 8*a*) colorés ensuite à l'hématoxyline de Delafield, on voit, de la façon la plus évidente, que la couche pigmentée forme un revêtement complet autour du corps central. Pourtant, il n'en est pas toujours ainsi; et j'ai observé des cas, par exemple chez *Phormidium papyraceum* (fig. 16 *a*), où certainement le corps central touche les cloisons transversales des cellules et où, par conséquent, la couche corticale constitue un cylindre creux.

Jamais, même chez les grosses cellules de *Scytonema* ou de *Rivularia*, je n'ai pu apercevoir le moindre protoplasme hyalin autour de la couche pigmentée. M. Fischer (1897, p. 25) n'a pas vu non plus de bordure claire autour de son « chromatophore ». Il en admet néanmoins l'existence.

Si la couche pigmentée est nettement limitée vers l'extérieur, il n'en est pas de même pour sa face profonde. Des coupes faites par M. Fischer (1897, pl. II, fig. 36, 42, 43, 44) montrent, au contraire, que la limite entre la couche corticale et le corps central est loin d'être précise. Je puis confirmer ces observations pour *Oscillatoria princeps :* on colore sur le vif des trichomes par le bleu de méthylène; puis, par de légères pressions, on détache quelques cellules; dans celles qui se disposent à plat, on voit le corps central, fortement coloré, envoyer de fins prolongements dans la couche pigmentée.

Presque toujours, la couche corticale contient des granulations qui ne se colorent pas par le bleu de méthylène.

Rarement le protoplasme est tout à fait homogène (fig. 12, 13, 20, 23 et 24). Le plus souvent, il y a des granulations petites et très nombreuses (fig. 22, 25 et 26), ou bien moins nombreuses et beaucoup plus grosses (fig. 19, 21, 27 et 28).

Ces granulations ont été appelées par M. Nadson (1895) « grains de réserve », et par M. Bütschli (1890) « grains incolores » par opposition avec les « grains rouges » que nous rencontrerons plus tard. M. Borzí leur a donné le nom de grains de « cyanophycine », nom qui a été adopté par la plupart des auteurs. Pour les colorer, M. Zacharias recommande de nouveau (1900, p. 26) le carmin acétique de Schneider, qu'il emploie depuis longtemps (1892). J'ai obtenu de très bons résultats en plongeant les trichomes vivants dans du carmin acétique récent, dilué de dix fois son volume d'un mélange à parties égales d'eau et d'acide acétique. Après une action de dix à vingt-quatre heures, les grains ont une vive teinte rose : il est alors facile de voir qu'ils se trouvent exclusivement dans la couche corticale.

7. *Corps central.* — Pour terminer l'examen de la cellule au repos, il ne nous reste qu'à étudier le corps central occupant tout l'espace laissé libre au milieu de la cellule par l'enveloppe pigmentée. Il est très variable dans sa forme et dans ses dimensions. Nous avons déjà vu qu'il n'est pas nettement délimité vis-à-vis de la couche périphérique : les deux substances se pénètrent réciproquement. D'une façon générale, sa forme est en rapport avec celle de la cellule, mais il s'en faut de beaucoup que des cellules de même volume aient des corps centraux égaux. Pour se rendre compte de ces différences de dimension dans des espèces pourtant voisines, il suffit de comparer les figures 9 et 10. La figure 16, représentant des trichomes de la même espèce, dans les mêmes conditions, pris au même moment et traités de la même façon, est encore plus démonstrative.

D'ordinaire le corps central se colore fortement par le bleu de méthylène dilué, *in vivo*. Mais on remarque tout de suite qu'il contient deux choses différentes : une substance fondamentale moyennement colorée et des granulations qui absorbent le bleu avec une très grande énergie.

La *substance fondamentale* existe toujours, mais sa colorabilité varie beaucoup. Le cas dans lequel elle est le moins visible est représenté par la figure 14 ; c'est à peine si l'on parvenait à la distinguer ; même, je n'ai pas voulu la figurer parce que j'aurais dû forcer un peu sa coloration. Dans d'autres cas, elle est tellement masquée par l'abondance des grains qu'elle semble à première vue faire défaut ; mais alors un examen plus attentif la fait découvrir.

Les *granulations* du corps central sont celles que M. Bütschli (1890, p. 19) a appelées « grains rouges » parce qu'elles se colorent en rouge par l'hématoxyline de Delafield [1] ; M. Nadson (1895) leur donne le nom de « chromatine » ; M. Palla, celui de « boules mucilagineuses » (*Schleimkugeln*). Pour ce dernier auteur, elles sont en dehors du corps central ; mais aucun autre observateur ne les a rencontrées dans cette position. Pour ma part, j'ai toujours vu qu'elles étaient à l'intérieur du corps central ou à sa surface (fig. 23).

Il me paraît même vraisemblable qu'elles sont formées par la même matière, plus condensée, que la substance fondamentale : elles se conduisent de la même façon en présence de tous les réactifs.

Les granulations du corps central ont des dimensions très variables. Parfois elles sont tellement petites qu'elles se laissent à peine deviner (fig. 15, 20) ; ailleurs, elles deviennent énormes ; il en est ainsi dans certains trichomes de *Phormidium autumnale* (fig. 13), tandis que dans d'autres elles sont très petites (fig. 12*b*). Des différences analogues s'observent chez le *Ph. papyraceum* (fig. 16).

---

[1] J'ai toujours observé une teinte plutôt violette (fig. 10). D'après M. Lauterborn (1896, p. 30), qui les appelle « grains de Bütschli », ils se colorent aussi en rouge violet par le bleu de méthylène. Cette teinte n'est sans doute obtenue que si le bleu de méthylène contient du rouge de méthylène. Toujours est-il que je n'ai jamais eu, avec le bleu de méthylène ordinaire, qu'une teinte bleue. J'observais la teinte rouge violette avec le bleu de méthylène polychrome ; M. Bütschli (1898, p. 66) décrit aussi cette réaction.

*Constitution alvéolaire du protoplasme.* — Disons ici un mot de la texture intime du protoplasme des Schizophytes qui, d'après M. Bütschli (1890, 1896) est alvéolaire. Jamais je n'ai rien observé qui pût être pris pour de la structure alvéolaire, ni surtout rien qui rappelât, même de très loin, les dessins par trop schématiques que donnent M. Bütschli (1890 et 1896) et M. Nadson (1895).

## § 2. — Structure des cellules en activité.

Après avoir passé en revue les diverses parties de la cellule au repos, voyons maintenant comment se comporte le protoplasme pendant les phases d'activité : division, croissance et mort des cellules végétatives; développement des spores; développement des hétérocystes; développement et germination des conidies.

1. Division cellulaire. — Chez les *Chamaesiphon,* la cellule végétative ne se divise pas. Chez les Chroococcacées, les Oscillatoriacées et les Nostocacées, toutes les cellules végétatives sont aptes à se diviser. Chez les Stigonématacées, les Scytonématacées et les Rivulariacées, les nouvelles cellules ne naissent d'ordinaire que dans certaines régions des trichomes.

Les phénomènes qui conduisent à la division cellulaire diffèrent suivant qu'on considère des cellules arrondies à leurs extrémités, ou des cellules cylindriques à cloisons transversales planes.

A. *Cellules arrondies.* — Elles sont isolées chez les Chroococcacées, réunies en trichomes chez les Nostocacées. Voici dans quel ordre les modifications se succèdent :

*a*) La cellule s'allonge; le corps central s'étrangle plus ou moins en son milieu (fig. 21 *b*, 23 *b* et 24).

*b*) Les progrès de l'étranglement finissent par séparer le corps central en deux moitiés; en même temps, la membrane cellulaire s'infléchit vers l'intérieur le long de l'équateur de la cellule, ce qui amène la division du protoplasme et la bipartition de la cellule.

Jamais, à aucun moment, ni chez aucune espèce, je n'ai vu apparaître une disposition particulière de la substance fondamentale ressemblant à une figure caryocinétique (Bütschli, 1898, pl. I). Je n'ai pas vu non plus que les granulations exécutassent pendant la division des mouvements comme ceux que M. Nadson a figurés pour le *Merismopedia elegans* (1895, pl. IV, fig. 15-20). Pourtant, j'ai eu soin d'étudier avec la plus grande attention de très nombreuses familles de cette même espèce à tous les stades de la division.

B. *Cellules cylindriques* (*Oscillatoriacées*, *Scytonématacées* et *Rivulariacées*).

*a*) La cellule s'allonge; le corps central s'étrangle plus ou moins en son milieu (fig. 9, 10 et 17).

Quand les cellules sont très peu élevées, comme c'est le cas pour beaucoup d'Oscillatoriacées, l'étranglement initial semble faire défaut, et le corps central se montre tout de suite formé de deux plaques parallèles entre elles (fig. 17).

*b*) Que les cellules soient hautes (fig. 9, 10) ou plates (fig. 17, 25 *a*), le corps central est maintenant divisé en deux moitiés; en même temps on voit, suivant l'équateur de la cellule, se détacher, à la surface interne de la membrane, une saillie annulaire qui s'accroît vers l'axe de la cellule et finit par constituer une cloison séparatrice. Souvent, une nouvelle saillie pariétale naît dans chacune des cellules filles, avant même que la première cloison soit terminée (fig. 9 et 17).

Ce mode centripète de bipartition n'a rien d'exceptionnel; il est au contraire très répandu chez tous les organismes inférieurs, aussi bien chez les Algues (*Cladophora*, *Spirogyra*, etc.) que chez les Flagellates (*Polytoma*, etc.), chez les Bactéries (voir Migula, 1894, fig. 10, 11 et 12) et chez les Champignons (voir Dangeard, 1899, I).

2. ALLONGEMENT DES CELLULES. — Chez les Rivulariacées, le trichome se termine vers le haut par un poil composé de cellules très allongées. Les figures 30 *a* et 30 *b* montrent le début de la transformation chez *Dichothrix Baueriana* : des vacuoles apparaissent dans la couche périphérique; en même temps, le corps central s'étire; souvent il se fragmente, et finalement il est réduit à presque rien. Chez *Rivularia*, M. Zacharias (1900, p. 33) a vu le corps central disparaître comme tel, ne laissant que quelques granulations. J'ai observé le même phénomène (fig. 29).

3. Formation et germination des conidies (fig. 20). — On donne le nom de conidies à de petites cellules provenant de la segmentation des cellules végétatives des Chamésiphonacées et servant à la propagation.

Dans les cellules végétatives adultes, qui sont très longues, le corps central occupe toute la longueur de la cellule (fig. 20 *a*, *b*); parfois il est même plus long et est obligé de se replier (fig. 20*c*). Il a une surface très irrégulière; ses granulations sont tout à fait indistinctes et condensées de façon très inégale.

Quand la cellule se dispose à former une conidie, une petite portion terminale du corps central se détache et s'arrondit; bientôt une constriction annulaire de la couche interne isole la jeune conidie (fig. 20 *d*, *e*, *g*). Le même phénomène se répète un grand nombre de fois (fig. 20 *f*, *g*, *h*). Les conidies isolées sont rondes; généralement, elles grossissent un peu avant de germer (fig. 20 *i*).

La germination ne se fait qu'en contact d'un corps solide; c'est la position du point de contact qui déterminera l'orientation de l'axe du futur organisme. Vers le point d'attouchement, la conidie envoie un pied un peu élargi (fig. 20 *j*) et, à partir de ce moment, la plante croît perpendiculairement à son support (fig. 20 *j*, *k*). La cellule s'allonge sans se cloisonner; elle s'élargit vers le haut; son corps central s'amincit de plus en plus vers le bas. Quand elle a la longueur voulue, la cellule commence à donner de nouvelles conidies.

4. Désorganisation de la cellule. — Lorsque dans un trichome une cellule meurt, on constate tout d'abord que le corps central se désagrège et que la matière constituant les granulations se répand à travers toute la cellule; la couche corticale, de son côté, laisse échapper son pigment qui diffuse vers le centre de la cellule (fig. 27 sous *h*, 30 *c*). Au lieu de la coloration habituelle, les cellules traitées par le bleu de méthylène prennent souvent une teinte verdâtre, due au mélange des diverses substances protoplasmiques.

5. Développement des spores. — La cellule végétative destinée à devenir une spore s'accroît dans tous les sens. Mais ses diverses parties ne s'agrandissent pas également. La couche pigmentée, souvent bourrée de grains de cyanophycine, s'allonge et s'élargit de façon à entourer toujours le corps central, mais elle ne s'épaissit pas; il en résulte que l'espace central devient proportionnellement plus grand

(fig. 21 *a*). Lorsque la spore, pourvue maintenant d'un très gros corps central, a presque atteint ses dimensions définitives, sa membrane commence à s'épaissir. Le grand développement du corps central dans les spores se voit très bien aussi sur la figure que M. Nadson (1895, pl. V, fig. 54) donne de l'*Aphanizomenon*.

6. DÉVELOPPEMENT DES HÉTÉROCYSTES. — Les espèces les plus favorables à cette étude sont celles qui ont des hétérocystes terminaux, par exemple : *Nostoc sphaericum* (fig. 22), *Cylindrospermum* et *Rivularia* (fig. 28).

Quand les cellules végétatives contiennent des grains de cyanophycine, la première modification consiste dans la disparition de ces grains (fig. 22*b*). Puis le corps central se désorganise et les granulations centrales envahissent tout le protoplasme. Petit à petit, les grains colorables par le bleu de méthylène se dissolvent jusqu'à ce que finalement le contenu prenne tout entier une teinte uniforme, bleue ou verdâtre, qui dépend des quantités relatives de pigment assimilateur et de matière centrale que contenait la cellule (fig. 22 *c*, *d*, *e*). On peut comparer, par exemple, les hétérocystes de *Tolypothrix* (fig. 27) avec ceux de *Rivularia* (fig. 25) et ceux de *Nostoc* (fig. 22). Chez certaines espèces, la dissolution des grains centraux n'est jamais complète, et le contenu de l'hétérocyste adulte reste un peu granuleux ou plus coloré au milieu qu'à la périphérie (fig. 21 *h*).

D'une manière générale, ces modifications rappellent beaucoup celles qui accompagnent la mort de la cellule. Pourtant les hétérocystes ont un protoplasme vivant, ainsi que le prouve la formation d'une membrane résistante; d'ailleurs leur protoplasme est semiperméable, comme celui des cellules végétatives.

Pendant que ces divers changements s'accomplissent à l'intérieur de la cellule, la membrane subit un épaississement notable. A l'endroit où elle touche aux cellules voisines, la membrane devient souvent un peu plus grosse (fig. 21, 27); souvent même elle y présente un point saillant vers l'intérieur (fig. 28). Chez beaucoup de Nostocacées, on aperçoit une mince traînée protoplasmique traversant la portion épaissie de la membrane (fig. 21 et 23).

A partir du moment où la cellule végétative se dispose à devenir un hétérocyste, elle cesse de former de nouvelles couches gélifiées (fig. 21), ce qui fait que le plus souvent les hétérocystes ne sont plus englobés dans la gaine gélatineuse entourant le trichome (*Rivularia natans, Nostoc sphaericum*, fig. 22).

(Pendant l'impression de ce mémoire, deux travaux importants me sont parvenus. M. Bütschli (*Meine Ansicht über die Structur des Protoplasmas und einige ihrer Kritiker*, dans Archiv für Entwickelungsmechanik der Organismen, Bd XI, S. 499) défend de nouveau ses idées sur la structure alvéolaire du protoplasma. Les photographies de *Tolypothrix* qui sont jointes à ce travail ne sont aucunement convaincantes.

Le mémoire posthume de Hegler (*Untersuchungen über die Organisation der Phycochromaceenzelle*, dans Jahrb. f. wiss. Bot., Bd XXXVI, S. 299) contient d'abord un historique très complet. Des recherches de l'auteur ressortent les deux points suivants : *a*) la couche périphérique ne constitue pas une plastide, mais elle contient un très grand nombre de plastides minuscules ; *b*) le corps central est un noyau qui se divise par caryocinèse. Ce travail est également accompagné de photographies peu démonstratives : la caryocinèse ne s'y voit pas. Quant aux multiples petites plastides, je n'ai jamais rien aperçu qui pût leur être comparé.)

## II. — INTERPRÉTATION DES FAITS.

Maintenant que nous connaissons les diverses parties de la cellule des Schizophytes, tant à l'état d'activité qu'à l'état de repos, nous pouvons essayer de répondre aux questions suivantes :

La couche pigmentée est-elle une plastide ?

Le corps central des Schizophycées est-il un noyau ?

Les grains colorés des Bactéries sont-ils des noyaux ?

Enfin, la cellule des Schizophytes est-elle comparable à celle des autres organismes ?

*A*. Couche pigmentée. — Pour qu'elle puisse être comparée à une plastide colorée ou chromatophore, telle qu'il en existe chez les autres plantes, il faudrait évidemment qu'elle eût une certaine individualité. Or, vers l'extérieur, la couche pigmentée n'est pas entourée de cytoplasme ; vers l'intérieur, ses limites avec le corps central sont tout à fait indécises. La plastide vraie, au contraire, est toujours un organe fermé, nettement séparé du cytoplasme, même chez les Euglènes et les autres Flagellates pourvus de plastides. D'ailleurs, voit-on chez d'autres organismes des vacuoles à gaz et des vacuoles liquides se loger dans des plastides, comme chez les Schizophycées? Sa fonction assimilatrice seule rapproche incontestablement la couche périphérique des plastides colorées. Mais tous les morphologistes sont d'accord pour n'accorder aucune valeur à la fonction d'un organe.

*B.* CORPS CENTRAL. — M. Bütschli (1896, p. 43) dit fort justement qu'aucun observateur placé devant un trichome bien coloré d'*Oscillatoria*, n'hésiterait à reconnaître les corps centraux pour des noyaux. On peut se demander si ce n'est pas cette ressemblance toute superficielle qui a amené MM. Zacharias (1890), Bütschli (1890, 1896), Scott (1888), Dangeard (1892) et d'autres auteurs à appeler le corps central un noyau.

Dans ces dernières années, MM. Bütschli (1896) et Fischer (1897) ont, chacun de son côté, repris et discuté tous les arguments pour et contre la nature nucléaire de l'organe en question; ils sont arrivés, naturellement, à des conclusions opposées. Je crois inutile d'exposer par le menu toutes ces raisons. Voici les principaux arguments qui ont été invoqués en faveur du noyau des Schizophycées :

*a*) Les caractères chimiques du corps central qui le rapprochent plus ou moins de la chromatine. On s'est surtout basé sur sa non-solubilité par les ferments digestifs et sur sa grande affinité pour les matières colorantes. Récemment, M. Mac Allum a encore indiqué la présence d'une substance analogue à la chromatine et contenant du fer et du phosphore (1898).

*b*) L'apparition pendant la division cellulaire de quelque chose qui rappelle vaguement une figure caryocinétique.

⁂

Les opposants ont beau jeu vis-à-vis de pareils arguments :

*a*) Les caractères chimiques sont loin d'être constants; ils sont d'ailleurs insuffisamment établis.

Une réaction qui, au premier abord, semble très probante, — la colorabilité par le bleu de méthylène à l'état vivant, — n'a, en réalité, aucune valeur. En effet, le bleu de méthylène n'est pas l'une des matières qui colorent le noyau vivant (voir Campbell, 1888, p. 570). M. Lauterborn (1896, p. 9) dit également que la coloration du noyau vrai par cette matière ne commence que lorsque la cellule est déjà malade. D'autre part, des granulations qui se colorent intensément quand les cellules vivantes sont plongées dans le bleu de méthylène dilué, existent non seulement chez les Schizophycées, mais aussi chez beaucoup d'autres organismes inférieurs. A ceux que MM. Bütschli (1890, p. 30) et Lauterborn (1896, p. 31) indiquent, on peut en ajouter pas mal d'autres : parmi les Algues, *OEdogonium sp.*, *Conferva sp.*, *Ophiocytium cochleare*, *Pediastrum Ehrenbergi*, *Scenedesmus sp.*, *Zygnema sp.*, et surtout *Mesocarpus sp.*; parmi les Champignons, une Chytridinée parasite de *Mesocarpus*, une Ancylistinée parasite de *Conferva*, un *Collema sp.*; *Amoebidium parasiticum*, etc. On observe, notamment chez les Protococcinées (*Ophiocytium*, *Pediastrum*, *Scenedesmus*, etc.), que toutes les cellules ne sont pas également pourvues de ces grains; tantôt ceux-ci font défaut, tantôt la cellule en est bourrée.

*b*) Les soi-disant figures caryocinétiques ne sont pas non plus fort démonstratives : celles qui ont été décrites par M. Bütschli (1898, fig. 1 et 2) ont été vues sur des préparations d'une Nostocacée flambée sur la lamelle à la façon d'une Bactérie; cette préparation fut colorée et photographiée; l'épreuve fut ensuite agrandie, retouchée, enfin rapetissée. Telle qu'elle se présente après ces manipulations, elle n'est pas du tout probante et laisse l'impression d'avoir été mal mise au point.

M. Scott (1888) a aussi donné des figures peu probantes de la division plus ou moins indirecte du corps central.

M. Nadson (1895, p. 72) considère comme transition de la division directe à la division indirecte, les mouvements des grains centraux qu'il dit avoir observés et que je n'ai pas pu retrouver.

Ajoutons encore qu'il y a d'autres arguments décisifs, me semble-t-il, contre l'assimilation du corps central à un noyau.

*c*) L'absence de limites nettes. Il est bien vrai que M. Schaudinn a décrit chez *Amoeba cristalligera* un noyau sans membrane; mais ici le noyau était bien délimité, ce qui n'est pas le cas pour le corps central des Schizophytes.

*d*) La vacuolisation du corps central chez le *Scytonema cincinnatum*.

*e*) La présence de vacuoles à gaz dans le corps central de *Phormidium fragile* (?) et d'un *Anabaena* et leur absence dans les hétérocystes de ce dernier.

*f*) La façon dont le corps central se comporte lorsque la cellule s'allonge (chez *Chamaesiphon* et chez les Rivulariacées) ou qu'elle devient une spore ou un hétérocyste. Il n'y a pas d'exemple qu'un vrai noyau devienne énormément plus gros lorsque la cellule qui le contient passe à l'état de vie latente; c'est pourtant ce qui a lieu lors de la transformation d'une cellule végétative en spore (fig. 21); de même, il serait tout à fait exceptionnel que le noyau disparût ou se fragmentât dans une cellule qui reste vivante, ainsi que cela se produit dans les cellules qui deviennent des hétérocystes (fig. 21, 22 et 28), et dans celles qui occupent l'extrémité prolongée en poil d'un trichome de Rivulariacée (fig. 29 et 30).

*C.* Grains colorés des Bactéries. — M. Bütschli n'attribua pas seulement un noyau aux Schizophycées; les Bactéries ont aussi, d'après lui, un noyau typique dans lequel sont englobés les grains colorés. Ce noyau occupe presque la totalité du protoplasme; à peine y a-t-il parfois un peu de cytoplasme aux extrémités ou à la périphérie de la cellule. Cette interprétation a été combattue par M. Migula (1894 et 1897) et M. Fischer (1897). Il ne me paraît pas douteux que les observations si précises de M. Migula sur *Bacillus oxalaticus* (1894), observations que j'ai eu l'occasion de refaire, renversent complètement la théorie de M. Bütschli.

M. Meyer (1897 et 1899) a soutenu une autre opinion. Lui aussi admet que la cellule de Bactérie est nucléée; même, elle contiendrait des noyaux multiples, jusque six : il considère comme tels les grains colorés (les mêmes qui dans mes préparations se colorent par le bleu de méthylène).

A ce compte, le *Scytonema cincinnatum* contiendrait un nombre incalculable de noyaux. Mieux encore, les Diatomées et un grand nombre d'autres Algues possèdent, outre le noyau de tout le monde, reconnu par tous les observateurs, plusieurs petits noyaux au sens de M. Meyer.

C'est également M. Migula (1898) qui a montré l'inexactitude de l'idée de M. Meyer. Il a fait voir, par exemple, que les Bactéries jeunes n'ont pas de granulations; que celles-ci naissent au sein du protoplasme; qu'elles ne se divisent jamais; bref, qu'elles ne se comportent pas du tout comme des noyaux.

*D.* Signification de la cellule des Schizophytes. — D'après tout ce qu'on vient de voir, la cellule des Schizophytes n'est pas construite sur le même modèle que celle des autres organismes.

Les Bactéries ont un protoplasme uniforme, contenant quelques granulations colorables par le bleu de méthylène.

Chez les Schizophycées, les grains colorés sont tous au milieu de la cellule, dans le corps central ou en contact immédiat avec lui. Mais la différenciation est loin d'être complète, et la cellule la plus spécialisée des Schizophycées nous apparaît encore comme une simple masse protoplasmique dont la portion périphérique porte un pigment assimilateur et dont l'espace central sert de réservoir à des substances déterminées.

La cellule des Schizophytes ne contient donc ni une plastide ni un noyau typique. Peut-on néanmoins admettre que la couche corticale représente phylogéniquement une plastide, qu'elle est l'ancêtre de la plastide des Algues, et que le corps central a les mêmes relations vis-à-vis du noyau d'une cellule typique? A mon avis, rien ne confirme cette manière de voir : les différences entre les prétendus organes ancestraux et les organes dérivés sont trop grandes, et aucune forme de transition entre eux n'est connue.

Il faut, je pense, considérer que parmi les cellules des êtres vivants, il y a deux types distincts : d'une part, la cellule composée de cytoplasme et d'un noyau, éléments primordiaux auxquels s'ajoutent les plastides chez beaucoup de plantes et de Flagellates; d'autre part, la cellule des Schizophytes à structure beaucoup plus simple.

## III. — SUR LA CLASSIFICATION DES ORGANISMES INFÉRIEURS.

Les Schizophytes forment-ils un groupe naturel? Cela n'est plus contestable depuis que Cohn (1875, p. 202) a montré que les Bactéries, loin de ressembler aux Champignons, sont proches parentes des Cyanophycées. Il poussa même son système beaucoup plus loin et répartit simplement les genres de Bactéries au milieu des Cyanophycées. L'idée fondamentale de Cohn a acquis droit de cité, mais on a renoncé, avec raison, à intercaler les genres incolores parmi ceux qui sont pigmentés.

Les différences dans la structure du protoplasme montrent qu'il faut subdiviser les Schizophytes en deux groupes distincts : les Bactéries et les Schizophycées. Les Thiobactéries avaient été d'abord intercalées par M. Migula (1896) parmi les Bactéries proprement dites; mais, plus tard (1898), il les a, avec raison, détachées pour en faire un groupe autonome.

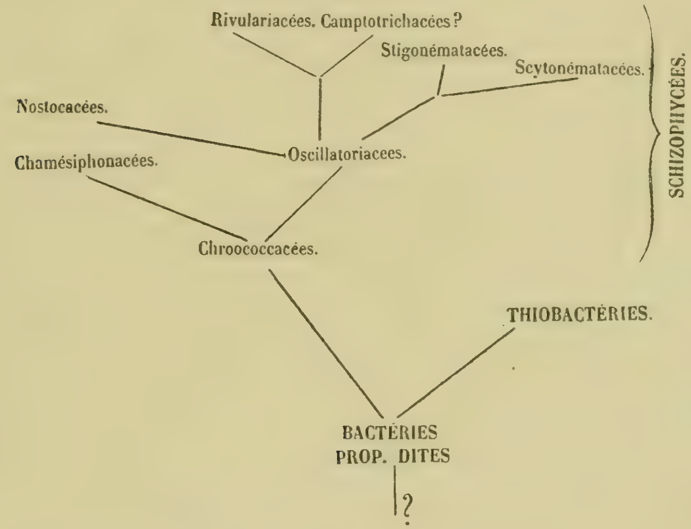
Les plus primitifs des Schizophytes sont les Bactéries. Il est, en effet, bien évident que M. Bütschli (1890, p. 33) a raison lorsqu'il dit que lors de l'apparition de la vie sur notre planète, les premiers organismes pouvaient fort bien être des saprophytes qui se nourrissaient des matières organiques non employées à la formation des cellules. Ajoutons que, d'après ce que nous venons de voir, les Bactéries ont une structure beaucoup plus simple que les Schizophycées; or, aucun fait n'est de nature à faire supposer que cette simplicité soit secondaire : les Bactéries sont des cellules simples, non des cellules simplifiées.

Des Bactéries proprement dites descendent, d'une part, les Thiobactéries, restées à un stade inférieur d'évolution, d'autre part, les Schizophycées, dont la structure protoplasmique atteint son maximum de différenciation. Parmi ces dernières, les Chroococcacées — formes inférieures — ont gardé les cellules toutes semblables, et la plupart d'entre elles n'ont même pas encore acquis la propriété de passer à l'état de vie latente : toutes les cellules sont immortelles, mais à la condition de ne jamais se reposer. Quand nous nous élevons dans la série des Schizophycées, nous rencontrons des groupes tels que les Nostocacées, qui, — outre les cellules végétatives, — possèdent des cellules spécialisées, prédestinées à la mort précoce (hétérocystes), et des cellules capables de passer à l'état de repos (spores). Mais le trichome a conservé ses deux bouts égaux. A un degré plus élevé d'évolution, le trichome est fixé par l'un de ses bouts : chez les Stigonématacées, la croissance s'effectue presque uniquement par le bout libre; chez les Rivulariacées, l'extrémité distale est prolongée en un poil incolore.

Le *Chamaesiphon* possède, tout comme une Rivulariacée, un bout proximal et un bout distal. A ce point de vue, il est donc plus spécialisé qu'une Nostocacée. Mais il n'en est pas de même pour la différenciation des cellules : les individus adultes sont unicellulaires et tous égaux. Mais dans ces cellules toutes semblables, il y a une curieuse différenciation intracellulaire : le bout distal seul est capable de former des gonidies; dès qu'un certain nombre de celles-ci ont été détachées, le bout inférieur, quoique encore pourvu d'un corps central et d'une couche pigmentaire, est devenu incapable de se segmenter davantage (fig. 20 *h*), et il finit par mourir. Il y a donc dans chaque cellule une portion virtuellement immortelle (l'extrémité libre) et une portion vouée à la mort (l'extrémité fixée). Or, nous avons vu (p. 269) que ce sont les conditions extérieures — contact avec un corps solide — qui décident de la polarité de la conidie au moment de la germination.

Récemment, M. Meyer (1897 et 1899) a voulu remettre les Bactéries avec les Champignons. Se basant sur la prétendue découverte de noyaux dans la cellule de Bactéries et sur le mode de formation des spores autour de ces noyaux, il assimila la cellule sporifère à un asque et rapprocha les Bactéries des Ascomycètes. Cette opinion n'a pas de fondement réel.

On peut, je pense, représenter comme ceci la filiation des divers groupes de Schizophytes :


Rivulariacées. Camptotrichacées?
Stigonématacées.
Scytonématacées.
Nostocacées.
Chamésiphonacées.
Oscillatoriacees.
Chroococcacées.
SCHIZOPHYCÉES.
THIOBACTÉRIES.
BACTÉRIES PROP. DITES
?

Les Schizophytes n'ont, à mon avis, de parenté avec aucun autre groupe d'organismes.

Essayons de montrer successivement : *a*) que les Schizophytes et les autres organismes ne descendent pas d'un ancêtre commun ; *b*) qu'ils ne dérivent d'aucun autre groupe ; *c*) qu'ils n'ont pas donné naissance à un autre groupe.

1° La cellule des Schizophytes est tellement différente de celle des autres organismes inférieurs, qu'on ne réussit vraiment pas à se figurer comment pourrait être l'ancêtre commun dont dériveraient les uns et les autres. Les Flagellates les plus inférieurs, aussi bien que les Rhizopodes primitifs, exécutaient probablement des mouvements amiboïdes. Or, ceux-ci manquent aux Schizophytes; et rien ne fait supposer qu'ils aient été perdus dans l'évolution. Au contraire, les attractions moléculaires qui siègent dans les cellules, si petites, des Bactéries, excluent la possibilité de déformations amiboïdes. D'ailleurs, les Bactéries, même les plus ténues, ne sont-elles pas incluses dans une enveloppe rigide?

2° Les Schizophytes ne proviennent ni de Rhizopodes ni de Flagellates. Nulle part, chez ceux-ci, les cellules ne sont aussi peu différenciées que chez les Schizophytes, surtout que chez les Bactéries. Même le *Protomyxa pallida*, décrit par M. Gruber (1888), a des éléments chromatiques indiscutables; seulement, au lieu d'être concentrés en un noyau, ils sont disséminés dans tout le cytoplasme. Les Schizophytes, eux, n'ont sans doute pas de chromatine vraie (voir Zacharias, 1900, p. 32). Parmi les *Amoeba*, l'un des plus primitifs est certes *A. cristalligera*, décrit par M. Schaudinn, où le noyau est privé de membrane propre; mais l'organisme possède tout de même un noyau indiscutable. De même, tous les Flagellates ont un noyau typique. Quelles raisons y a-t-il de supposer que les Schizophytes proviennent des Rhizopodes ou des Flagellates? Pas une. Il serait surprenant que la cellule se fût simplifiée au point de devenir une cellule de Bactérie, et cela sans garder aucune trace de sa complexité originelle.

3° Enfin, demandons-nous si les Schizophytes ont produit d'autres groupes? C'est surtout des Schizophytes aux Algues que les botanistes aiment à établir une filiation. A première vue, le fait que ces organismes vivent dans l'eau et ont la faculté de vivre en holophytes paraît établir entre eux de solides relations de parenté. Mais on s'aperçoit bien vite que ce ne sont là que des illusions. Le mode de vie n'a évidemment aucune importance au point de vue qui nous occupe. Quant à la présence de pigments assimilateurs, elle a pu être acquise indépendamment par les Schizophycées d'une part, par les Flagellates, ancêtres des Algues, d'autre part. Une telle convergence n'aurait rien d'improbable [1].

J'ai eu l'occasion d'étudier récemment deux organismes inférieurs, qui tous deux possèdent une chromophylle présentant, au moins quant à son aspect microscopique et à sa solubilité, une identité complète avec le mélange de chlorophylline et de phycocyanine; ce sont un Flagellate proprement dit (*Cryptomonas glauca* Ehr.) et un Péridinien (*Gymnodinium sp. n.*). Il est bien évident que les Schizophycées et ces deux organismes-ci ne peuvent pas avoir hérité leur chromophylle d'un ancêtre commun et qu'il s'agit uniquement d'une convergence.

---

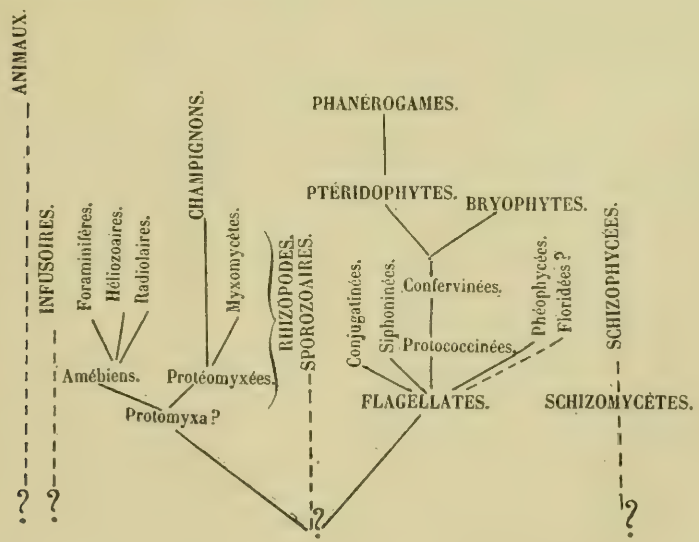
[1] Se rappeler, par exemple, que des vrilles ayant exactement le même mode de fonctionnement dérivent tantôt de feuilles, tantôt de tiges, dans les familles les plus diverses.

D'un autre côté, on est frappé de la grande affinité qui existe entre les Flagellates et les Protococcinées, qui sont à la base de la principale lignée des Algues vertes. Tout ce que nous savons laisse croire que les Protococcinées sont des Flagellates fixés et qu'il en est de même des autres vraies Algues.

Il y a pourtant parmi les Algues une division qu'on ne peut pas rattacher sûrement aux autres : c'est celle des Floridées. Beaucoup de genres qui avaient été d'abord décrits comme Cyanophycées ont été plus tard, quand on les connut mieux, classés parmi les Banginées, qui sont les Floridées inférieures. Si je rappelle ce fait, c'est uniquement pour ajouter que cela ne constitue pas du tout un argument en faveur d'une parenté quelconque entre les Schizophytes et les Floridées : erreur ou ignorance ne fait pas compte.

En somme, nous constatons que les Schizophytes sont un groupe fermé n'ayant d'affinité avec aucun autre.

Le tableau suivant est destiné à résumer nos connaissances actuelles sur la phylogénie des organismes.


ANIMAUX.
INFUSOIRES.
Foraminifères.
Héliozoaires.
Radiolaires.
CHAMPIGNONS.
Myxomycètes.
RHIZOPODES.
SPOROZOAIRES.
PHANÉROGAMES.
PTÉRIDOPHYTES.
BRYOPHYTES.
Conjugatinées.
Siphoninées.
Confervinées.
Protococcinées.
Phéophycées.
Floridées ?
SCHIZOPHYCÉES.
Amébiens.
Protéomyxées.
Protomyxa ?
FLAGELLATES.
SCHIZOMYCÈTES.
?
?
?
?

# BIBLIOGRAPHIE

Bornet et Flahault, *Revision des Nostocacées hétérocystées.* (Annales des Sciences naturelles. Botanique (7), t. III, p. 323; t. IV, p. 343; t. V, p. 65; t. VII, p. 177, 1886-1888.)

Borzi, *Note alla morfologie e biologie delle alghe ficacromacee.* (Nuovo giornale botan. ital., t. X, p. 253.) (Cité d'après Zacharias, 1890, p. 12.)

Brand, *Bemerkungen über Grenzzellen und über spontan rothe Inhaltskörper der Cyanophyceen.* (Ber. d. deutsche bot. Gesells., Bd XIX, S. 152, 1901.)

Bütschli, *Ueber den Bau der Bacterien und verwandter Organismen.* (Leipzig, 1890.)

— *Weitere Ausführungen über den Bau der Cyanophyceen und Bacterien.* (Leipzig, 1896.)

— *Notiz über Teilungszustände des Centralkörpers bei einer Nostocacee, nebst einigen Bemerkungen über Künstler's und Busquet's Auffassung der roten Körnchen der Bakterien, etc.* (Verhandlungen des naturw.-med. Vereins zu Heidelberg. Neue Folge, Bd VI, S. 63, 1898.)

Campbell, *The staining of living Nuclei.* (Untersuchungen aus dem botanischen Institut zu Tübingen, Bd II, S. 569, 1888.)

Certes, *Colorabilité élective des filaments sporifères de* Spirobacillus gigas *vivant par le bleu de méthylène.* (C. R. Ac. Sc. Paris, 2 juillet 1900, p. 75, 1900.)

Cohn, *Untersuchungen über Bacterien. II. Beiträge zur Biologie der Bacterien.* (Beiträge zur Biologie der Pflanzen, Bd I, Heft 3, S. 141, 1875.)

Dangeard, *Le noyau d'une Cyanophycée.* (Le Botaniste, 3e série, p. 28, 1892.)

— *Structure et communications protoplasmiques dans le* Bactridium flavum. (Le Botaniste, 7e série, p. 33, 1900.)

De Bary, *Vergleichende Morphologie und Biologie der Pilze.* (Leipzig, 1884.)

Errera, *L'épiplasme des Ascomycètes et le glycogène des Végétaux.* (Bruxelles, 1882.)

Fischer, *Untersuchungen über den Bau der Cyanophyceen und Bakterien.* (Iena, 1897.)

Gomont, *Monographie des Oscillariées.* (Annales des Sciences naturelles Botanique (7), XV, p. 263; XVI, p. 21, 1892.)

GRUBER, *Ueber einige Rhizopoden aus dem Genueser Hafen.* (Ber. naturf. Gesells. Freiburg in Breisgau, Bd IV, 1888.)

KIRCHNER, *Schizophyceae,* in ENGLER und PRANTL, Die natürliche Pflanzenfamilien, I. Teil, I. Abt., *a.*, 1898.

KLEBAHN, *Gasvacuolen, ein Bestandtheil der Zellen der Wasserblütebildenden Phycochromaceen.* (Flora, 1895.)

LAUTERBORN, *Untersuchungen über Bau, Kernteilung und Bewegung der Diatomeen.* (Leipzig, 1896.)

MACALLUM, *Proceedings of the Royal Society,* vol. LXIII, p. 467, 1898.

— *On the distribution of assimilated iron compounds, other than Hämoglobin and Hämatins, in animal and vegetable cells.* (Quarterly Journal of Microscopical Science, vol. XXXVIII, p. 267.) (Cité d'après Zacharias, 1900, p. 32.)

MARX, *Untersuchungen über die Zellen des Oscillarien.* (Schwelm, 1892.)

MEYER, *Studien über die Morphologie und Entwickelungsgeschichte der Bacterien, ausgeführt an* Astasia asterospora, *und* Bacillus tumescens. (Flora, 1897.)

— *Ueber Geisseln, Reservestoffe, Kerne und Sporenbildung des Bacterien.* (Flora, p. 428, 1899.)

MIGULA, *Ueber den Zellinhalt von* Bacillus oxalaticus *Zopf.* (Arbeiten des bakteriol. Instituts der grossh. Hochschule zu Karlsruhe, 1894.)

— *Schizomycetes,* in ENGLER und PRANTL, Die natürliche Pflanzenfamilien, I. Teil, I. Abteil., 1896.

— *System der Bakterien.* (Iena, 1897-1899.)

— *Weitere Untersuchungen über* Astasia asterospora. (Flora, 1898.)

NADSON, *Ueber den Bau der Cyanophyceen-Protoplastes.* (Scripta botanica, 1895.)

PALLA, *Beitrag zur Kenntniss des Baues des Cyanophyceen-Protoplastes.* (Jahrbüch. für wissenschaftliche Botanik. Bd XXV, S. 511, 1893.)

SCHAUDINN, *Ueber Kerntheilung mit nachfolgender Körpertheilung bei* Amoeba cristalligera. (Sitzb. d. k. preuss. Akad. d. Wiss. zu Berlin (2) Bd II, p. 1029.) (Cité d'après Dangeard, dans *Le Botaniste,* 6e série, p. 56.)

SCHEWIAKOFF, *Ueber einen neuen bacterienähnlichen Organismus des Süsswassers.* (Verhandl. naturw.-med. Ver. zu Heidelberg. Neue Folge, Bd 5, S. 44, 1892.)

SCOTT, *On nuclei in* Oscillaria *and* Tolypothrix. (Journ. of the Linn. Society. Botany, vol. XXIV, 1887.)

WILLE, *Ueber die Zellkerne und die Poren der Wände der Phycochromaceen.* (Ber. d. deutsche bot. Ges., Bd I, S. 243, 1883.)

Winogradsky, *Beiträge zur Morphologie und Physiologie der Bacterien.* — Heft I : *Zur Morphologie und Physiologie der Schwefelbacterien.* (Leipzig, 1888.)

Zacharias, *Ueber die Zellen der Cyanophyceen.* (Bot. Zeitung, Nos 1-5, 1890.)

— *Ueber die Zellen der Cyanophyceen.* (Bot. Zeitung, No 38, 1892.)

— *Ueber die Cyanophyceen.* (Abhandl. auf dem Gebiete der Naturwissenschaften, herausgegeben vom Naturw. Verein. Hamburg, Bd XVI, 1900.)

# PLANCHES

## PLANCHE I

# EXPLICATION DE LA PLANCHE I.

Bl. méth. = coloré vivant par le bleu de méthylène à ..

Fig. 1. *Bacillus Megaterium,* d'une culture sur agar de 2 jours. Bl. méth. $^1/_{20\,000}$, 2 heures.

Fig. 2. *B. Megaterium,* d'une culture sur agar de 21 jours. Bl. méth. $^1/_{20\,000}$, 2 heures.

Fig. 3. *Chlamydothrix fluitans*, d'une infusion de feuilles. Bl. méth. $^1/_{40\,000}$, 10 heures.

Fig. 4. *Bacillus sp.* de Coxyde, non coloré.

Fig. 5. *Beggiatoa leptomitiformis,* fixé par l'alcool absolu, coloré par l'hématoxyline de Delafield.

Fig. 6. *B. torulosa.* — *a,* Bl. méth. $^1/_{10\,000}$, 24 heures. — *b,* fixé par alcool absolu 100, sublimé 1, acide acétique 1; coloré par l'hématoxyline de Delafield. — *c,* fixé par l'alcool absolu; coloré par l'hématoxyline de Delafield.

Fig. 7. *Achromatium oxaliferum.* Individu privé d'enclaves solides. Bl. méth. $^1/_{40\,000}$, 24 heures.

Fig. 8*a*. *Oscillatoria irrigua,* traité 20 heures par l'eau de javelle faible, puis coloré par l'hématoxyline de Delafield.

Fig. 8*b*. Diatomée traitée en même temps que l'Oscillaire.

Fig. 9. *Oscillatoria simplicissima*. Bl. méth. $^1/_{40\,000}$, 7 heures.

Fig. 10. *O. chalybea,* fixé par l'acide chromique à 1 $^0/_0$ et coloré par l'hématoxyline très diluée, 2 jours.

Fig. 11. *Phormidium fragile* (?) — *a*) Frais. — *b*) Bl. méth. $^1/_{30\,000}$, 20 heures.

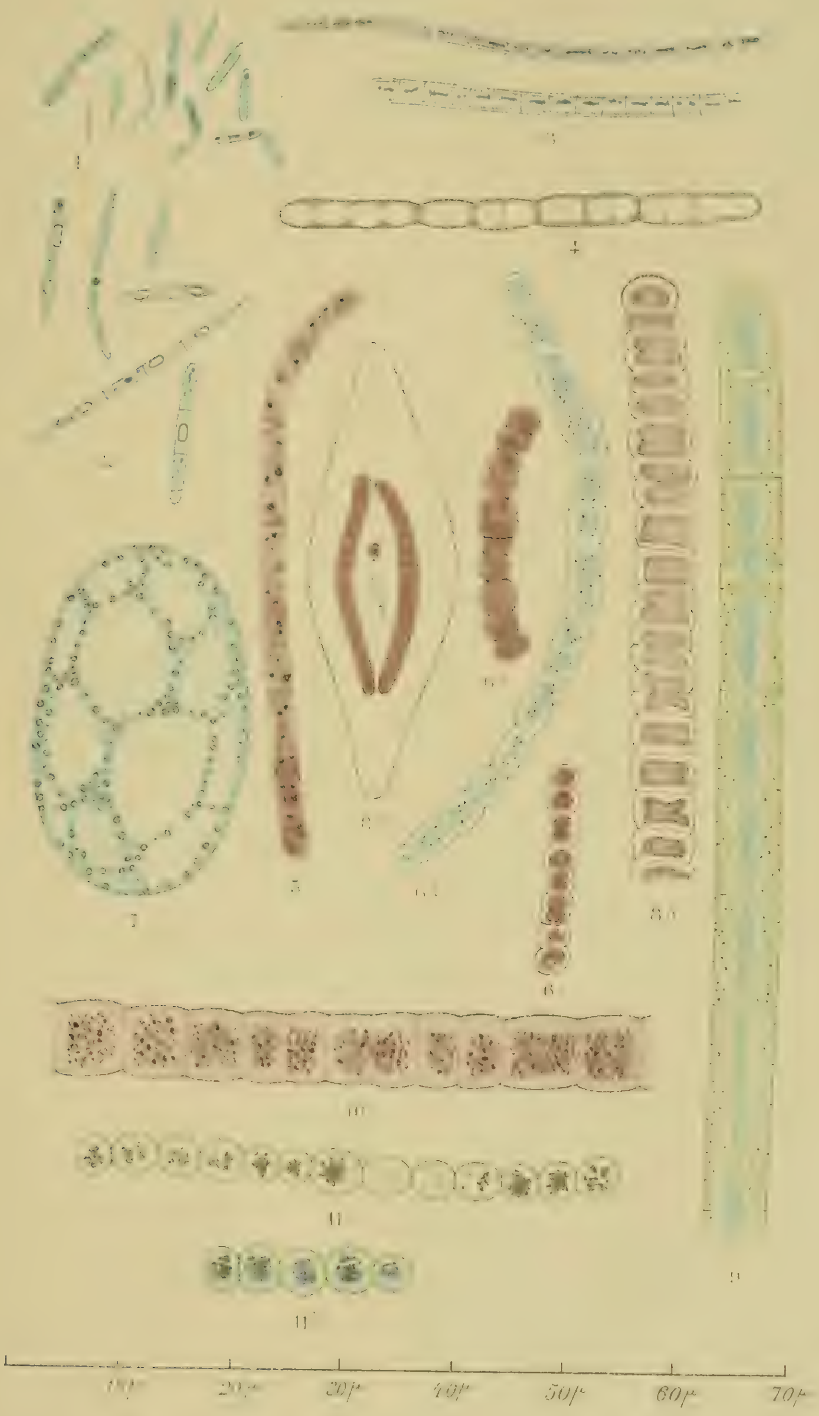

1
2
3
4
5
6 a
6 b
6 c
7
8
8 a
9
10
11
11'
10μ
20μ
30μ
40μ
50μ
60μ
70μ

PLANCHE II

## EXPLICATION DE LA PLANCHE II.

Bl. méth. = coloré vivant par le bleu de méthylène à ...

Fig. 12. *Phormidium autumnale,* pris dans les conditions naturelles. Bl. méth. $^1/_{10\,000}$, — *a,* coloré 1 heure; — *b, c, d,* colorés 3 $^1/_2$ heures.

Fig. 13. *P. autumnale,* cultivé 3 mois sur agar. Bl. méth. $^1/_{10\,000}$, 80 minutes.

Fig. 14. *P. autumnale,* cultivé 3 mois sur agar, puis 24 jours dans l'eau Bl. méth. $^1/_{10\,000}$, 3 heures. Le trichome est interrompu sur une longueur de 270 μ.

Fig. 15. *P. tenue,* Bl. méth. $^1/_{20\,000}$, 1 heure.

Fig. 16. *P. papyraceum,* colorés tous de la même façon : Bl. méth. $^1/_{20\,000}$, 1 heure.

Fig. 17. *Lyngbya putealis.* Bl. méth. $^1/_{20\,000}$, 1 heure. — *a, b, c, d,* stades successifs de la division cellulaire.

Fig. 18. *L. aerugineo-caerulea.* Bl. méth. $^1/_{20\,000}$, 1 heure.

Fig. 19. *L. versicolor.* Bl. méth. $^1/_{20\,000}$, 30 minutes.

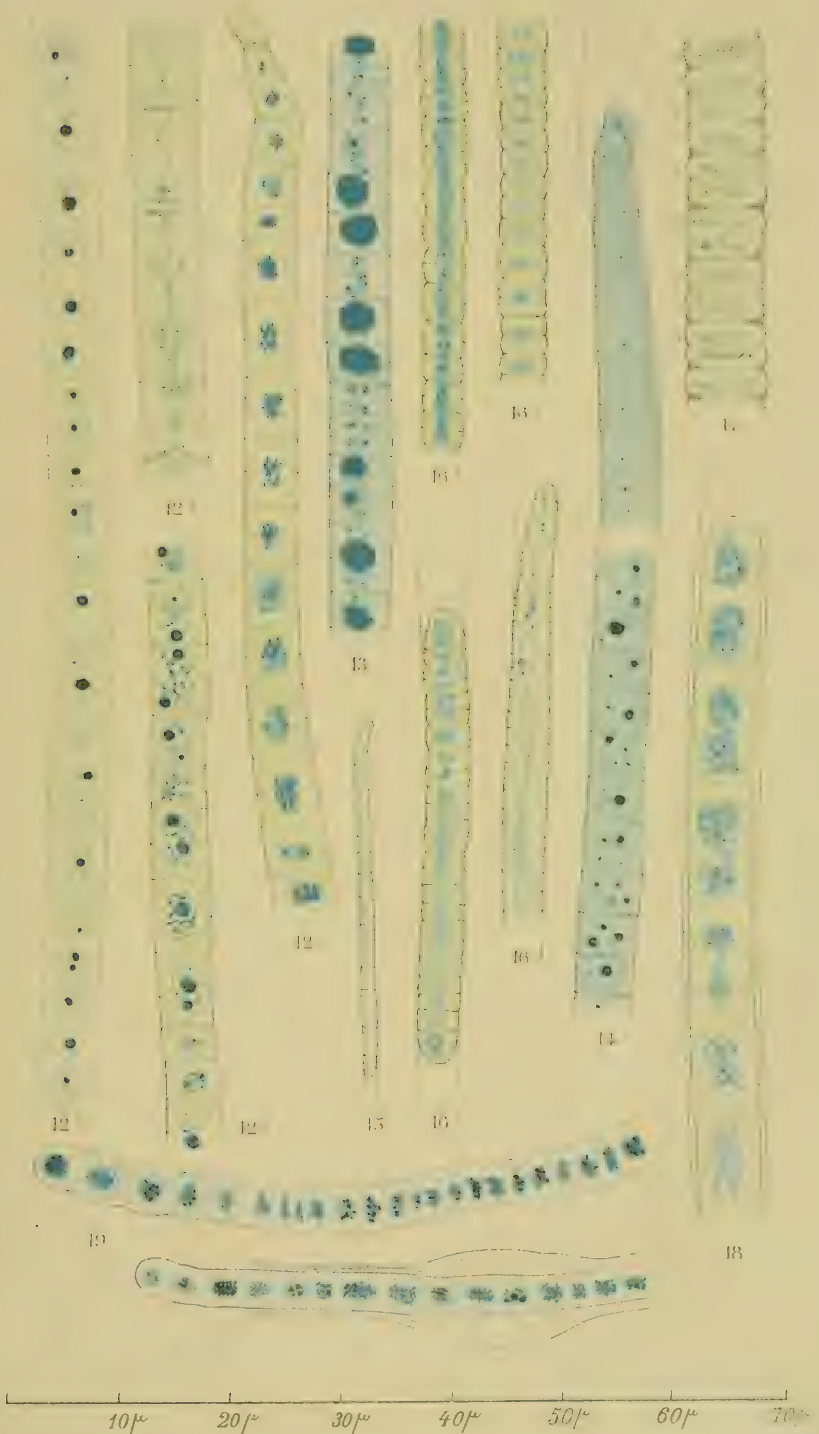
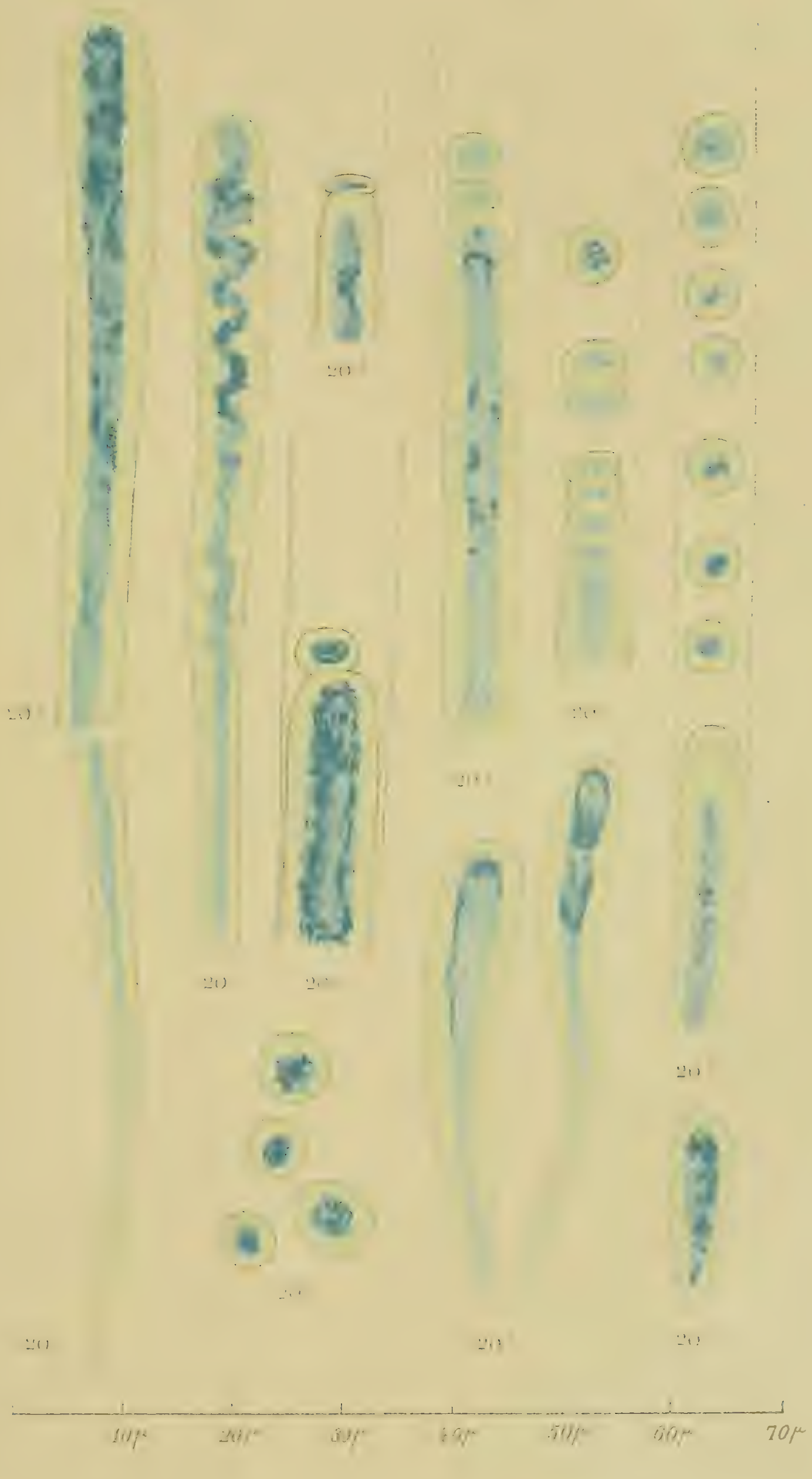

12
16
16
12
13
12
16
14
12
12
15
16
19
18
10μ
20μ
30μ
40μ
50μ
60μ
70μ

PLANCHE III

## EXPLICATION DE LA PLANCHE III.

**Fig. 20.** *Chamaesiphon confervicola.* Coloré vivant par le bleu de méthylène à $^1/_{25\,000}$, 20 heures.

*a.* Sommet d'un individu adulte.
*b.* Base du même.
*c.* Sommet avec corps central tortueux.
*d, e, f, g, h.* Formation des conidies.
*i.* Conidies isolées.
*j, k.* Germination des conidies.


10μ
20μ
30μ
40μ
50μ
60μ
70μ

# PLANCHE IV

## EXPLICATION DE LA PLANCHE IV.

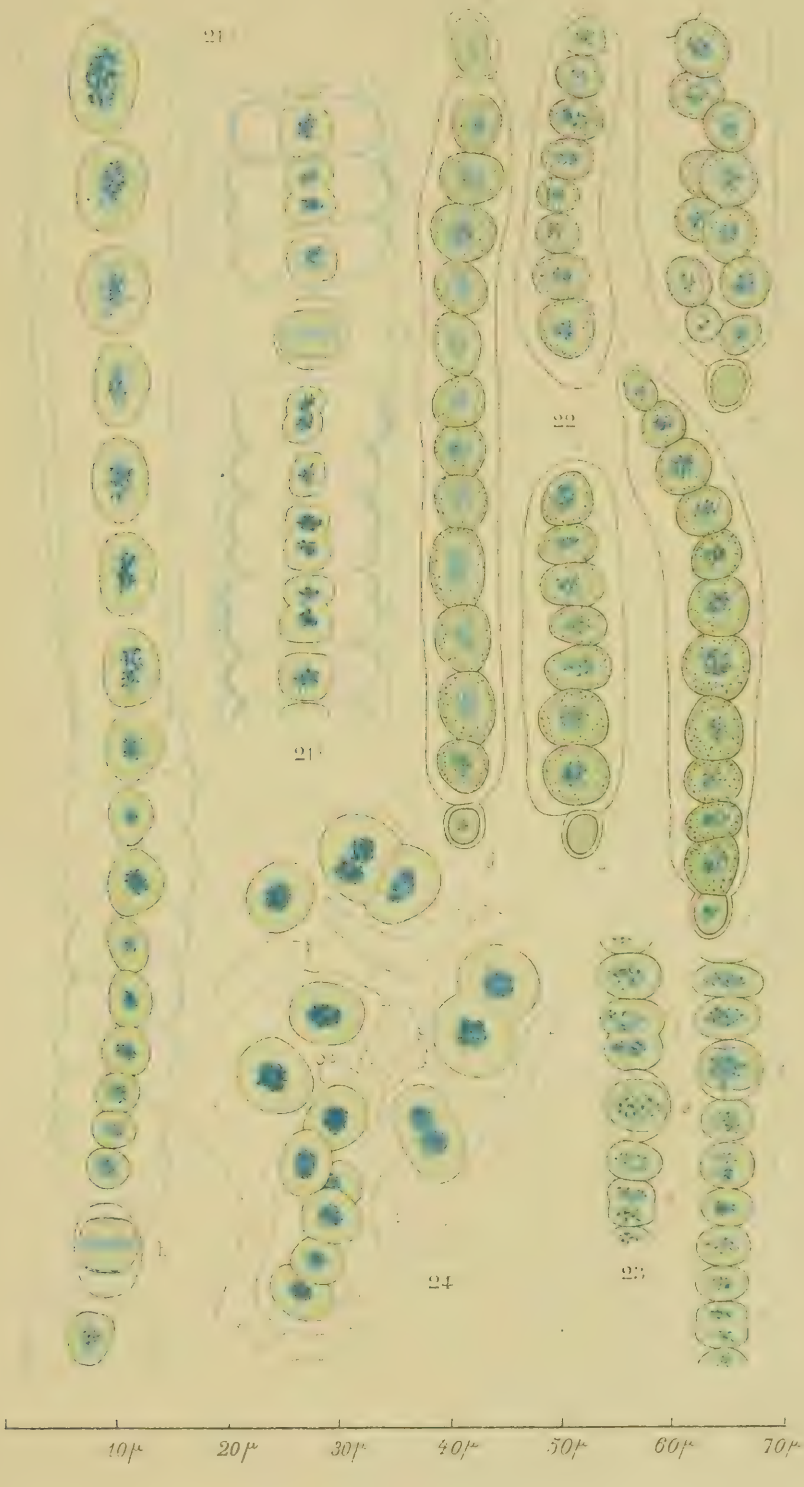
**Bl. méth. = coloré vivant par le bleu de méthylène à ...**

Fig. 21. *Noctoc spongiaeforme,* avec gaines gélatineuses multiples. Bl. méth. $^1/_{20\,000}$, 4 heures. — *a,* stades successifs de la formation des spores; les supérieures sont les plus avancées. — *b,* division cellulaire.

Fig. 22. *N. sphaericum,* familles jeunes. Bl. méth. $^1/_{20\,000}$, 2 heures. *a, b, c, d, e,* stades successifs de la formation de l'hétérocyste.

Fig. 23. *Anabaena variabilis.* Bl. méth. $^1/_{20\,000}$, 1 heure. — *a,* hétérocystes jeunes. — *b,* divisions cellulaires.

Fig. 24. Gonidies de *Peltigera canina.* Bl. méth. $^1/_{10\,000}$, 1 heure.


21
21
22
24
23
10μ
20μ
30μ
40μ
50μ
60μ
70μ

# PLANCHE V

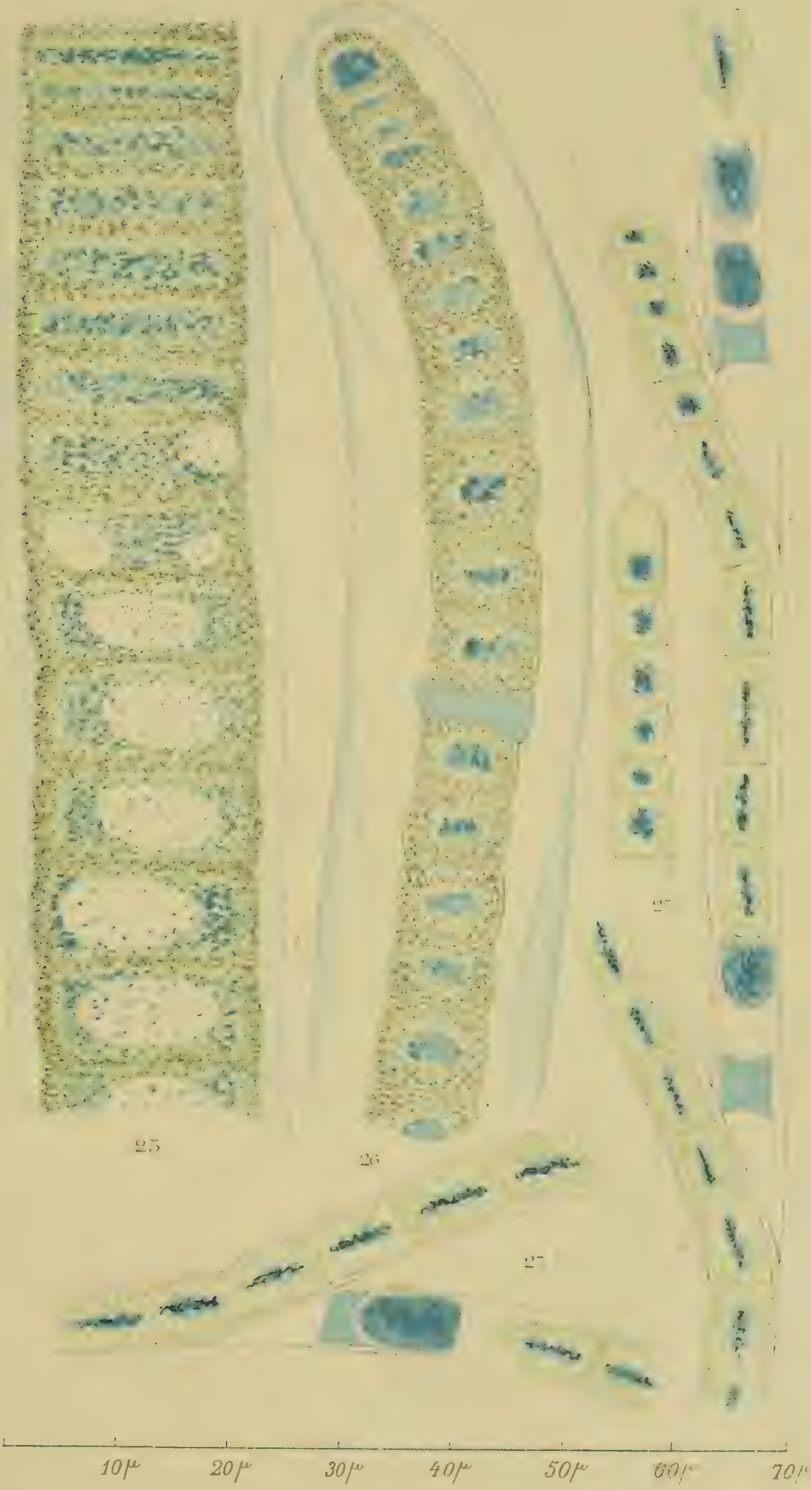
## EXPLICATION DE LA PLANCHE V.

Bl. méth. = coloré vivant par le bleu de méthylène à…

FIG. 25. *Scytonema cincinnatum.* Bl. méth. $^{1}/_{10\,000}$, 24 heures. — *a,* cellules jeunes. — *b,* cellules adultes.

FIG. 26. *S. Myochrous.* Bl. méth. $^{1}/_{10\,000}$, 24 heures. Vers le milieu, une cellule morte.

FIG. 27. *Tolypothrix tenuis.* Bl. méth. $^{1}/_{10\,000}$, 27 heures. — *a,* fausses ramifications, sous les hétérocystes. — *b,* sommets en voie de croissance. — *h,* hétérocystes.


25
26
27
27
10μ
20μ
30μ
40μ
50μ
60μ
70μ

## PLANCHE VI

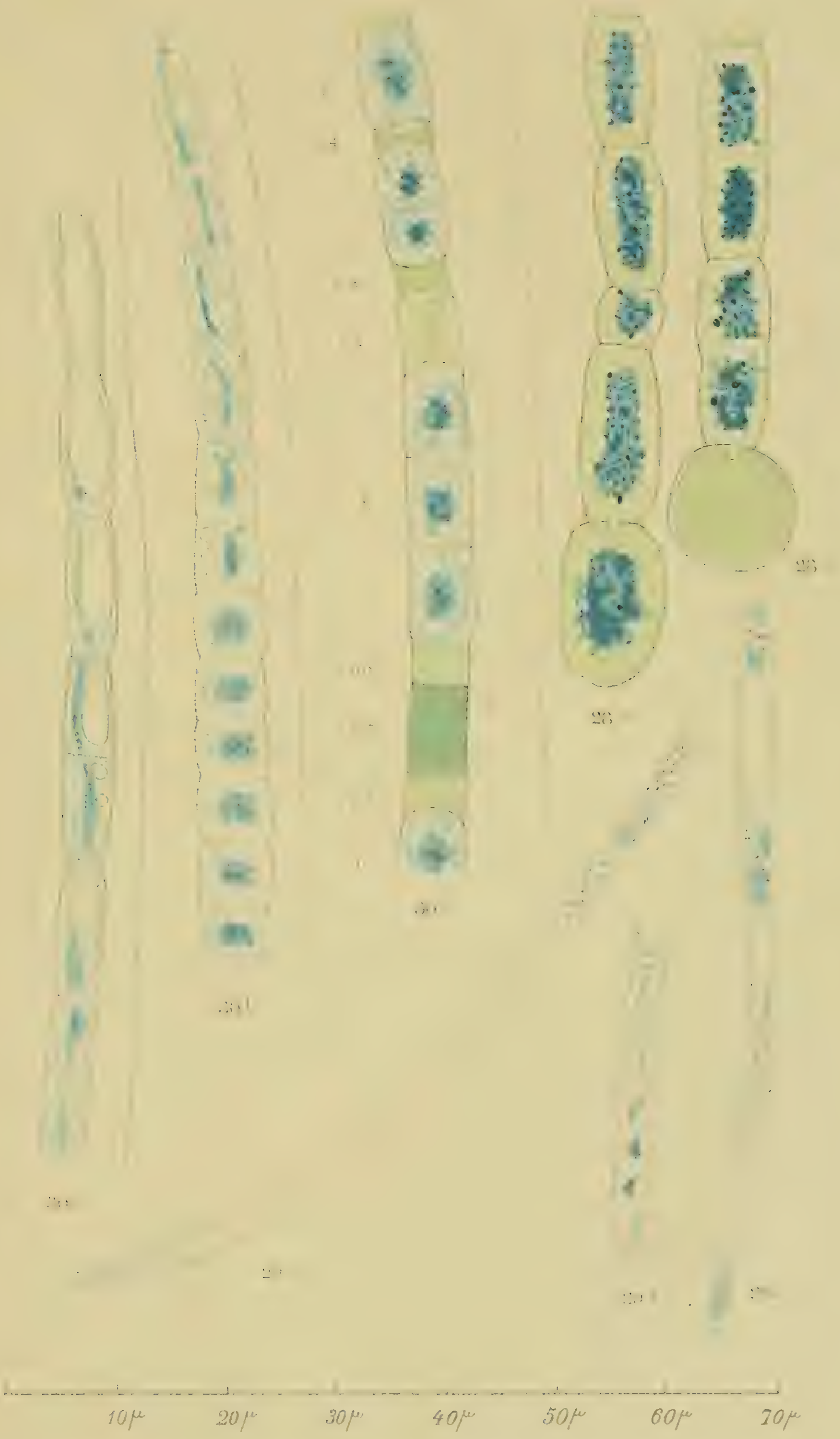
## EXPLICATION DE LA PLANCHE VI.

Bl. méth. = coloré vivant par le bleu de méthylène à ...

FIG. 28. *Rivularia sp.* Bl. méth. $^1/_{20\,000}$, 2 heures. — *a*, hétérocyste jeune. — *b*, hétérocyste presque adulte.

FIG. 29. *R. natans.* Bl. méth. $^1/_{10\,000}$, 2 heures. Trois cellules de l'extrémité amincie d'un trichome.

FIG. 30. *Dichothrix Baueriana.* Bl. méth. $^1/_{10\,000}$, 24 heures. — *a*, extrémité amincie d'un trichome. — *b*, continuation (vers le bas) de la figure 30*a*. — *c*, portion de trichome avec cellules normales (*n*) et cellules à divers états de désorganisation ($m^1$, $m^2$, $m^3$, $m^4$.)


25
26
10μ
20μ
30μ
40μ
50μ
60μ
70μ

# DE LA PRÉTENDUE EXISTENCE

DE

# SOLANINE DANS LES GRAINES DE TABAC

PAR

**JOHANNES STARKE** (1)

Dans un travail récent, Albo (2) a signalé comme très probable l'existence de la solanine dans les graines de *Nicotiana Tabacum*. En appliquant à cet objet les méthodes microchimiques en usage pour la recherche des alcaloïdes dans les plantes, l'auteur arrive bien à tomber d'accord avec les autres botanistes en ce qu'il n'y a pas de nicotine dans les graines mûres de *Nicotiana*, mais il y aurait là quand même un principe alcaloïdique qui, suivant ses recherches microchimiques, serait très probablement la solanine.

Cela constituerait un fait absolument nouveau.

Or, nous savons, surtout par Molle (3), que les méthodes microchimiques, tout en restant un moyen précieux pour de telles investigations, ne peuvent être appliquées qu'avec beaucoup de critique. Et c'est à cause de cela, autant que pour la nouveauté du fait signalé par Albo, que M. Errera m'a invité à vérifier macrochimiquement le bien-fondé des indications de l'auteur italien.

En suivant cette invitation, j'ai donc exécuté les expériences que voici :

---

(1) Ce travail paraît simultanément ici et dans le *Bull. de l'Acad. roy. de Belgique* (Classe des sciences), 1901, nº 7, pp. 379-383.

(2) G. ALBO, *Funzione fisiologica di alcuni alcaloidi vegetali*. Paerme, 1900.

(3) PH. MOLLE, *Recherches de microchimie comparée sur la localisation des alcaloïdes dans les Solanacées*. Bruxelles, 1895. (MÉM. COUR. ET MÉM. DES SAV. ÉTR. DE L'ACAD. ROY. DE BELGIQUE OU RECUEIL DE L'INST. BOT. DE BRUXELLES, t. II.)

Première expérience : *Choix de la méthode et son examen sur un objet contenant certainement de la solanine.*

Les méthodes données par divers chimistes ne diffèrent que peu entre elles. Par conséquent, j'ai choisi tout simplement la méthode que Beilstein (1) recommande, et je l'ai essayée à l'aide de pousses de pommes de terre.

Environ 15 grammes de ces pousses fraîches réduites en pâte dans le mortier, sont digérés douze heures dans une solution d'acide acétique à 2 %. — Cet acide ne dédouble pas la solanine en sucre réducteur et solanidine. — La digestion finie, on presse le tout à travers un linge à l'aide d'une presse de laboratoire.

La liqueur ainsi obtenue est portée à 50° et, à cette température, additionnée de $NH_3$ jusqu'à réaction manifestement alcaline. Il se forme un précipité. On filtre.

Le résidu sur le filtre est séché à la température ordinaire dans le vide et puis bouilli plusieurs fois de suite avec de l'alcool à 85 %. Filtrations à chaud.

Le liquide alcoolique filtré est additionné d'une solution aqueuse d'ammoniaque jusqu'à l'apparition d'un trouble. On laisse se déposer, puis on filtre.

Le résidu sur le filtre est repris dans la plus petite quantité possible d'alcool à 85 % bouillant, et cet alcool alors filtré à chaud le plus vite que l'on peut.

On obtient ainsi le liquide alcoolique chaud définitif où se précipite, par refroidissement, la solanine.

Dans cette liqueur se forment, en effet, en quantité, à mesure qu'elle se refroidit, des cristaux incolores, du brillant de la soie blanche, ayant la forme de très petites et très fines aiguilles : c'est là la forme typique des cristaux de solanine. Ces cristaux ne réduisent pas la liqueur de Fehling, mais si on les bout avec de l'acide chlorhydrique à 5 % pendant vingt minutes environ, ils fournissent une substance réduisant l'oxyde de cuivre en milieu alcalin. En solution alcoolique additionnée d'acide sulfurique concentré, ils donnent la coloration rouge-cerise caractéristique de la solanine.

---

(1) Beilstein, *Handbuch der organischen Chemie*, 3. Auflage, Bd III, p. 612.

*La méthode est donc bonne : elle fournit en peu de temps et à l'aide d'une quantité assez faible de pousses de pommes de terre la solanine pure et cristallisée.*

⁂

SECONDE EXPÉRIENCE : Sont traités d'après cette méthode 12 grammes de graines de *Tabac de Grammont*. Les graines sont prises telles quelles. Pendant qu'elles sont réduites en pâte dans le mortier, elles dégagent une odeur très manifeste d'acide butyrique. La digestion avec l'eau acidulée n'offre rien de spécial. Le premier précipité provoqué par l'ammoniaque semble tout à fait insoluble dans l'alcool bouillant. Le liquide alcoolique filtré, additionné d'eau ammoniacale, reste absolument clair.

*Il n'y avait donc pas de solanine.*

⁂

TROISIÈME EXPÉRIENCE : On traite, suivant la même méthode, 124 grammes de graines de *Nicotiana macrophylla*. J'ai d'abord séché ces graines vers 100°, la solanine et la solanidine ne se dédoublant qu'à partir de + 235°. Cette fois, la pâte n'offre point l'odeur de l'acide butyrique. En dehors de la richesse des graines en huile, la digestion ne montre rien de spécial. Mais lorsque la liqueur obtenue par la digestion est portée à 50°, elle donne lieu à un précipité — [*précipité* $\alpha$]. — On filtre et l'on suit avec le liquide filtré le cours de la méthode. Ce liquide alcoolique, additionné d'eau ammoniacale, *reste absolument clair : donc il ne contient pas de solanine.*

*Le précipité* $\alpha$ : il donne la réaction xanthoprotéique de même que la réaction du biuret ; il est insoluble dans $H_2O$, dans les solutions des sels neutres, dans les alcalis et dans les acides étendus. C'est donc une substance albuminoïde et, selon toute probabilité, une substance albuminoïde coagulée. Cela n'a rien d'étonnant, car nous savons qu'en milieu légèrement acide les substances albuminoïdes coagulent par la chaleur même à des températures au-dessous de + 50°.

Ce précipité est bouilli avec de l'alcool à 85 % plusieurs fois de suite. Les liquides alcooliques, obtenus par filtration à chaud, sont réunis et additionnés d'eau ammoniacale : ils restent absolument clairs.

*Il n'y avait donc pas de solanine fixée sur le précipité de la substance albuminoïde coagulée.*

Quand on a additionné la liqueur alcoolique d'eau ammoniacale sans avoir obtenu de trouble et qu'on laisse le tout au repos *pendant longtemps,* — pendant quinze jours par exemple, — il se forme quelquefois un faible précipité. *Ce précipité est de nature inorganique;* on y trouve des cristaux typiques de phosphate ammoniaco-magnésien, ce qui prouve seulement la présence des sels de magnésie dans les graines de *Nicotiana.*

⁂

Résultat : *Il n'y a pas de solanine dans les graines du Tabac d Grammont et de* Nicotiana macrophylla; *donc l'analyse macrochimique ne confirme point les indications de l'auteur italien.*

Appendice : On pourrait se demander s'il n'y a peut-être pas un alcaloïde quelconque, *inconnu jusqu'ici*, dans les graines de *Nicotiana.* J'ai traité ces graines d'après la méthode de Stas. Sans aucun doute, cette méthode m'a donné de la nicotine, avec son odeur tout à fait typique, mais rien d'autre. Et tous les botanistes, y compris Albo, sont d'accord pour déclarer que cette nicotine provient des débris adhérents à la graine et non des graines mêmes.

Institut botanique, Université de Bruxelles.
Juin 1901.

# ESSAI DE CLASSIFICATION

DES

# RÉFLEXES NON NERVEUX

PAR

**JEAN MASSART** (1)

## SOMMAIRE

Pages

I. — GÉNÉRALITÉ DES RÉFLEXES NON NERVEUX . . . . . . . . . . . . 301

II. — ANALYSE D'UN RÉFLEXE NON NERVEUX . . . . . . . . . . . . 302

A. Phases du réflexe . . . . . . 302

B. Durée et intensité des périodes . 304

1. Excitation (et sensation) . . . 304

a) Seuil de durée et seuil d'intensité . . . . . . . . . 305

b) Comble de durée et comble d'intensité . . . . . . . . . 305

c) Rebroussement . . . . . 306

2. Conduction et réaction . . . 307

a) Temps de latence . . . . 307

b) Temps de riposte . . . . 307

c) Intensité de la riposte . . 307

3. Temps de mémoire . . . . . 307

III. — NATURE DES EXCITANTS . . 308

A. Excitants internes . . . . . . 309

1. Age . . . . . . . . . . . . . 309

2. Forme . . . . . . . . . . . 310

Excitants non définis . . . 310

a) Influence du sommet . . . 310

b) Polarité . . . . . . . . . 310

c) Arcure . . . . . . . . . 311

B. Excitants externes . . . . . . 311

1. Excitants mécaniques . . . . 311

Pages.

a) Gravitation . . . . . . 311

b) Courant liquide . . . . . 312

c) Compression . . . . . . . 312

d) Contact . . . . . . . . . . 312

e) Secousse . . . . . . . 313

f) Traction . . . . . . . . 313

2. Excitants physiques . . . . 313

a) Lumière . . . . . . . . 313

b) Obscurité . . . . . . . 313

c) Chaleur . . . . . . . . . 313

d) Froid . . . . . . . . . . 314

e) Ondes hertziennes . . . . 314

f) Électricité . . . . . . . . 314

g) Pression osmotique . . 314

3. Excitants chimiques . . . 315

Excitants non définis . . . 315

a) Oxygène . . . . . . . . 316

b) Alcalis et acides . . . . . 316

c) Narcotiques . . . . . . . 316

d) Eau . . . . . . . . . . . . 317

IV. — NATURE DES RÉACTIONS . . . 318

A. *Réactions préparatives ou tonus* . . . . . . . . . . . 318

B. *Réactions modificatives* . . . 320

1. *Modifications qualitatives ou ripostes* . . . . . . . . . . . 324

1° Ripostes formatrices . . . 324

---

(1) Ce travail paraît simultanément ici et dans *Annales de l'Institut Pasteur* du 25 août 1901.

Pages.
α) Mérisme . . . . . . . . 325
β) Néisme . . . . . . . . . . 325
2° Ripostes motrices . . . . . 325
a) Déplacements. . . . . . . 326
α) Nectisme. . . . . . . . 326
β) Herpisme . . . . . . . 326
γ) Phobisme . . . . . . . 327
δ) Protéisme . . . . . . . 327
b) Mouvements angulaires . . 327
1. Ripostes orientées par rapport à l'excitant externe . 329
α) Taxisme . . . . . . . 329
β) Tropisme. . . . . . . 329
γ) Strophisme. . . . . . 329
2. Ripostes orientées par rapport au corps . . . . . . 329
α) Clinisme . . . . . . . 329
β) Nastisme. . . . . . . 329
γ) Hélicisme . . . . . . 330
3° Ripostes chimiques. . . . . 330
4° Ripostes diverses . . . . . 330
α) Photisme . . . . . . . . 330
β) Bolisme. . . . . . . . . 330
γ) Sphygmisme. . . . . . . 330
2. *Modifications quantitatives ou interférences* . . . . . . . . 331
1° Interférences subies par les ripostes . . . . . . . . . . 332
2° Interférences subies par les réactions élémentaires. . . . 333
α) Chimiose . . . . . . . 333
β) Thermose . . . . . . . 333
γ) Électrose . . . . . . . . 333
δ) Péranose . . . . . . . 333
ε) Synaphose. . . . . . . 333
ζ) Tonose . . . . . . . . 334
η) Auxose . . . . . . . . 334
Dolichose . . . . . . . 335
Pachynose . . . . . . . 335
θ) Morphose . . . . . . . . 335
V. — Direction, sens et localisation des réactions . . . . . . 336
A. Orientation par rapport à l'excitant externe . . . . . . 336
B. Orientation par rapport au corps . . . . . . . . . . . 338
VI. — Intensité et vitesse des réactions . . . . . . . . . . 339
VII. — Quelques termes généraux . . . . . . . . . . . . 340
Bibliographie . . . . . . . . . 341

Tout acte qui se passe dans le protoplasme vivant d'un organisme peut être envisagé au moins sous deux aspects différents : d'une part, on peut considérer dans le phénomène le côté chimique et étudier les changements matériels qui lui apportent la force nécessaire à son accomplissement, — et d'autre part, on peut l'examiner au point de vue de l'irritabilité, rechercher vis-à-vis de quelle excitation il est une réaction.

Ce second côté de toute question physiologique est presque toujours négligé par ceux qui s'occupent de la partie chimique, comme s'ils oubliaient que rien dans l'être vivant n'est spontané, — que toute modification, si légère soit-elle, a été provoquée par une excitation, et rentre, par conséquent, dans le domaine de l'irritabilité, — en un mot, que tout acte protoplasmique est un réflexe élémentaire réduit à sa plus grande simplicité.

## I. — Généralité des réflexes non nerveux.

Chez les Métazoaires, il existe un appareil particulier qui a pour objet de relier les diverses parties de l'organisme et d'établir ainsi la connexion entre les endroits d'où vient l'excitation et ceux qui doivent produire la réaction. Mais le système nerveux ne régit pas l'irritabilité de toutes les cellules des Métazoaires. Les cellules libres (leucocytes, spermatozoïdes, cellules migratrices du tissu conjonctif) n'ont aucun rapport avec lui. D'ailleurs, il s'en faut de beaucoup que le système nerveux ait la direction générale de tout ce qui a lieu dans les cellules auxquelles il se relie : il ne régit jamais que les actes les plus grossiers (contractions, sécrétions glandulaires, etc.), et il ne renseigne l'animal que sur les modifications les plus brutales du monde extérieur (lumière, son, chocs, etc.); tout ce qui est délicat se passe de son aide : les cellules se divisent, se développent et prennent leurs caractères spécifiques, l'endothélium vasculaire englobe les microbes et les digère, sans que l'appareil nerveux ait à intervenir en quoi que ce soit. Ajoutons que les nerfs n'apparaissent pas chez les animaux dès les premières segmentations de l'œuf; ainsi, les gastrula d'Échinodermes en sont encore complètement privées, alors qu'elles nagent déjà librement et doivent donc se guider à travers le monde extérieur. En somme, les réflexes nerveux sont l'exception, même chez les animaux supérieurs; si la plupart des physiologistes leur accordent une préférence si marquée qu'ils ne veulent connaître qu'eux, c'est uniquement parce que leurs effets sont plus apparents. — Enfin, à côté des Métazoaires où les réflexes nerveux accaparent d'ordinaire toute l'attention, il y a la foule des organismes inférieurs (Schizophytes, Flagellates, Infusoires, Rhizopodes, etc.) et des végétaux, chez lesquels les réflexes non nerveux existent seuls (¹).

Le domaine des réflexes non nerveux, quelque étendu qu'il soit, a

---

(¹) C'est, à ma connaissance, M. Errera (1894) qui a le premier défini les phénomènes d'irritabilité végétale : *des réflexes sans nerfs*.

pourtant des frontières bien définies. Et l'on se demande pourquoi M. Loeb [1890 et 1891 (¹)] et son école s'efforcent d'y introduire, par un véritable abus de langage, des choses qui ne ressemblent en rien aux purs et simples phénomènes d'irritabilité. Quel peut bien être l'avantage de désigner par le même mot « tropisme » des réactions aussi distinctes que les déplacements qu'exécutent les Insectes pour se rapprocher de la lumière, et la courbure par laquelle un *Phycomyces* (Champignon) dirige son extrémité vers l'excitant lumineux? N'est-il pas évident qu'il n'y a rien de commun entre la longue suite d'actes nerveux qui amènent la locomotion de l'Insecte et les modifications protoplasmiques qui se passent dans le mycélium du Champignon. La science n'a rien à gagner à de pareilles assimilations; elles reposent sur des confusions volontaires de termes et apportent avec elles la confusion dans les idées.

## II. — Analyse d'un réflexe non nerveux.

*A*. Phases du réflexe. — Un réflexe, même le plus simple, est encore beaucoup plus compliqué qu'il ne le paraissait au premier abord. Dans aucun cas bien étudié, on n'a constaté que les mêmes particules protoplasmiques pouvaient à la fois recevoir l'excitation et manifester la réaction. Ainsi, chez la plupart des organismes unicellulaires verts (Flagellates, zoospores d'Algues), la lumière est perçue par le stigma, tandis que c'est par les battements des fouets que l'axe du corps est orienté parallèlement à la lumière; il y a donc eu transmission de l'excitation depuis le stigma jusqu'aux fouets, par une voie encore inconnue (Engelmann, 1882).

La chose est bien plus complexe lorsque l'excitation vient de l'intérieur. Prenons, par exemple, le cas suivant : beaucoup de plantes donnent des tiges verticales qui continuent à s'allonger fort longtemps, sans se ramifier, pourvu que le bourgeon terminal soit intact. Dès que le sommet est détruit, les bourgeons axillaires se développent. Le

---

(¹) La bibliographie, rangée par ordre alphabétique, est réunie à la fin de l'article.

même résultat s'obtient sur une tige encore pourvue de son sommet, mais à laquelle on fait une annélation (c'est-à-dire qu'on lui enlève, sur une hauteur de 1 centimètre environ, tous les tissus superficiels, de façon à ne laisser que le bois) : les bourgeons situés sous l'annélation se mettent aussitôt à pousser. Cette expérience montre que le bourgeon terminal émet une excitation qui empêche la croissance des bourgeons latéraux ; dès que l'excitant n'est plus émis (décapitation), ou dès qu'il ne peut plus parvenir aux bourgeons axillaires (annélation), ceux-ci se réveillent tout de suite. — D'autres expériences, dont il serait trop long de donner le détail, indiquent que l'excitation n'arrive pas directement aux bourgeons latéraux, mais qu'elle est reçue d'abord par un organe sensitif, qui transmet ensuite la sensation aux organes capables de produire la réaction. Nous avons donc dans le réflexe inhibiteur que nous venons d'examiner les cinq phases que voici :

*Excitation. — Conduction de l'excitation. — Sensation.*
*Conduction de la sensation. — Réaction.*

Dans les cas plus simples, où l'excitation vient du dehors, les deux premiers termes sont supprimés et le réflexe non nerveux ne comprend que trois phases :

... *Sensation. — Conduction de la sensation. — Réaction.*

Le réflexe, tel que nous venons de l'analyser, est réduit à une trop grande simplicité. En effet, il est certain que chacune des cinq phases comprend encore une infinité de modifications protoplasmiques non perceptibles. La transmission de l'excitation ou de la sensation n'est certes pas une simple conduction physique ; sa lenteur fait supposer qu'elle est accompagnée de changements chimiques nombreux, correspondant à autant de petites réactions élémentaires. Nous ne connaissons pas davantage ce qui s'accomplit dans le protoplasme au moment où l'excitation est perçue et devient une sensation, ni la chaîne ininterrompue de modifications qui conduisent plus tard à la réaction finale. Nous aurons, du reste, à revenir encore plus loin sur cet inextricable écheveau de transformations protoplasmiques. Bornons-nous pour le moment à dire qu'un premier pas a été fait dans la voie de l'analyse intime de ces phénomènes, par M. Czapek (1898) : il a vu que la pointe de la racine, aussitôt après l'excitation, contient une plus grande quantité de substances oxydables aromatiques, tandis qu'il y a diminution des substances qui transportent l'oxygène (zymases oxydantes).

*B.* Durée et intensité des périodes. — Supposons maintenant un réflexe provoqué par un excitant externe bien maniable et terminé par une réaction à caractères nets, dont nous pouvons facilement déterminer le commencement et la fin et mesurer l'intensité. Nous prendrons, par exemple, la courbure qu'exécute la racine sous l'influence de la gravitation ou de la force centrifuge (Czapek, 1895, 1, et 1898), ou bien la courbure d'une tige éclairée d'un seul côté (Wiesner, 1878, 1880).

Faisons remarquer tout d'abord que nous allons *mesurer* la durée et l'intensité. Nous devrons donc subdiviser le réflexe en périodes à limites tranchées, sans plus faire attention aux phases que nous avions non pas constatées, mais simplement imaginées. Comme nous ne pouvons pas distinguer *a*) la transmission de l'excitation, *b*) la sensation et *c*) la transmission de la sensation, nous serons obligé de mesurer en une fois tout le temps qui s'écoule entre la fin de l'excitation et le début apparent de la réaction; encore ce « temps de latence » comprend-il les premiers changements qui s'accomplissent dans l'appareil réactionnel, avant le moment où la réaction se manifeste à nos sens.

1. *Excitation* (*et sensation*).

Il doit être bien entendu que si nous nous attachons à l'étude de l'excitation, c'est parce que nous ne parvenons pas à atteindre la sensation. En réalité, ce qui intéresse l'organisme, ce qui provoque la réaction, ce n'est pas l'excitation, c'est-à-dire le changement opéré dans le milieu, c'est uniquement le trouble que l'excitant apporte au protoplasme. Mais la sensation se dérobe à nos moyens de recherche, et faute de pouvoir étudier la perturbation protoplasmique, nous sommes bien forcés de nous contenter de ce qui en est la cause immédiate.

Bien rares sont les cas dans lesquels nous pouvons séparer, fût-ce grossièrement, l'excitation et la sensation. En voici un : les Noctiluques (Flagellates), lorsqu'elles s'illuminent dans les vagues et rendent la mer phosphorescente, réagissent non vis-à-vis de l'agitation de l'eau, mais envers la déformation que subit la cellule. La preuve en est que l'émission de lumière se manifeste quand on déforme la cellule doucement, sans la moindre secousse, — alors que tout reste sombre lorsqu'on fait vibrer fortement le liquide où se trouvent les Flagellates (Massart, 1893).

A. *Seuil de durée et seuil d'intensité.* — Pour que l'excitant agisse, il ne suffit pas qu'il ait certaines qualités sur lesquelles nous reviendrons plus loin, il faut encore qu'il dure un minimum de temps et qu'il ait un minimum d'intensité. On donne à ces valeurs minimales le nom de seuils. Il est essentiel de distinguer le seuil de durée du seuil d'intensité : une plante qui est exposée un court instant à une lumière, même très forte, ne réagira pas; de même, on a beau soumettre une racine pendant un temps indéfini à une force centrifuge inférieure à 0,001 $g$, rien ne se produit.

B. *Comble de durée et comble d'intensité.* — Existe-t-il un maximum de durée au delà duquel l'excitant cesse d'être efficace, ou un maximum d'intensité que l'on ne peut dépasser sous peine de voir l'excitant rester sans effet? Certes, on constate souvent que des organismes qui ont plusieurs fois de suite, et à de courts intervalles, réagi vis-à-vis d'un excitant déterminé, perdent peu à peu la faculté de réagir; mais il ne faut sans doute incriminer que la fatigue, puisque ces mêmes individus, presque épuisés, réagiront de nouveau si l'on renforce l'excitation. Ainsi, des Noctiluques qui ont cessé d'émettre de la lumière après un grand nombre de petites secousses, s'illumineront si la secousse est notablement plus forte. Quant au comble d'intensité, il semble que logiquement on doive l'admettre; il en est sans doute des phénomènes d'irritabilité comme de tous les autres actes vitaux : ils ont un *minimum*, un *optimum*, un *maximum* (Errera, 1896). Seulement, la détermination du maximum est rendue difficile, ou même impossible, par ce fait que l'excitant produit encore son effet accoutumé, à une intensité où il est déjà nuisible au protoplasme. Les *Paramaecium* (Infusoires), par exemple, s'orientent encore vers la cathode lorsque leur corps commence déjà à se désagréger sous la force du courant électrique (Ludloff, 1895).

C. *Rebroussement.* — Depuis le seuil d'intensité jusqu'à l'intensité pernicieuse, l'efficacité de l'excitant augmente-t-elle d'une façon continue? On pourrait citer pas mal de faits qui sont en harmonie avec cette idée. Ainsi, le *Polytoma Uvella* (Flagellate) est très sensible au carbonate de potassium : une solution qui en contient $0^{gr},00691$ % ($^{5}/_{100\,000}$ mole) les attire déjà nettement ; l'excitation devient de plus en plus forte à mesure que la concentration augmente, jusqu'à ce qu'elle soit telle que l'organisme y meurt instantanément (solution à 10 %). Mais d'autres organismes se conduisent d'une façon plus raisonnable : beaucoup d'êtres inférieurs marins (Bactéries, Flagellates, Infusoires), placés dans une solution hypotonique par rapport à l'eau de mer, se dirigent vers une solution plus forte ; si la solution devient hypertonique, on les voit aussitôt rebrousser chemin de façon à rester toujours dans une solution qui exerce la même pression osmotique que leur milieu habituel (Massart, 1891, 1). De même, à une lumière faible, beaucoup de Flagellates verts et de zoospores d'Algues s'orientent avec le bout antérieur vers la lumière ; quand l'intensité est forte, ils lui tournent le bout postérieur : les mouvements de natation vont maintenant déterminer la fuite des organismes. Ceux-ci ont donc une tendance à se diriger vers une lumière de force moyenne (Strasburger, 1878). Autres exemples : les *Paramaecium* (Infusoires) fuient les températures trop basses et les températures trop hautes (Mendelssohn, 1895) ; les Bactéries aérobies recherchent une tension d'oxygène moyenne. Dans tous ces divers cas, le sens dans lequel se fait la réaction est déterminé par l'intensité de l'excitant : à mesure que celle-ci s'élève, la réaction augmente jusqu'à un certain degré au-delà duquel elle diminue ; en un point précis, la réaction fait défaut ; dès qu'on l'a dépassé, elle reparaît, mais en sens inverse : il y a eu rebroussement.

Contrairement aux exemples précédents, chez le *Volvox* (Flagellate), c'est la durée de l'excitation qui provoque le rebroussement : les individus frais et n'ayant jamais été excités par le courant électrique vont vers la cathode; après un certain temps d'action, ils se retournent et orientent maintenant leur pôle antérieur vers l'anode (Carlgren, 1899).

On pourrait encore citer quelques autres exemples d'organismes qui sont capables de discerner eux-mêmes l'intensité d'excitant qui leur convient le mieux, et qui cessent de réagir quand ils se trouvent à cette intensité optimale. Toutefois, le nombre de ces cas resterait toujours très faible, et nous sommes loin du caractère de généralité que M. Verworn (1900) attribue à ce phénomène.

2. *Conduction et réaction.*

Les psychologues ont donné le nom de « temps de réaction » au temps qui s'écoule entre l'excitation et la réaction. Quand il s'agit de réflexes non nerveux, ordinairement plus lents que les manifestations étudiées par les psychologues, on peut souvent distinguer un premier temps pendant lequel rien ne se montre au dehors (*temps de latence*), et un second temps pendant lequel la réaction visible s'accomplit. Comme ce dernier temps n'a de limites précises que pour le genre de réactions que nous distinguerons plus loin sous le nom de riposte, nous l'appellerons *temps de riposte.*

A. *Temps de latence.* — Diverses expériences montrent que le temps de latence est modifié par la durée d'excitation et par l'intensité d'excitation. Les chiffres donnés par M. Czapek (1898) pour le géotropisme des racines de Lupin sont tout à fait démonstratifs.

B. *Temps de riposte.* — Il ne semble pas être dépendant de l'excitation qui a provoqué la réaction, mais il est très fortement influencé par tous les excitants qui produisent des *interférences* (voir plus loin) avec la riposte en voie d'exécution.

C. *Intensité de la riposte.* — Elle suit la loi de Weber, bien connue.

3. *Temps de mémoire.*

Il y a encore un dernier temps dont il importe de dire un mot. C'est le temps pendant lequel l'organisme conserve la mémoire d'une sensation envers laquelle il n'a pas pu réagir. Supposons une racine couchée horizontalement; elle va courber sa pointe vers le bas. Mais si la racine est incluse dans du plâtre, cette réaction ne pourra pas s'effectuer. Après une suffisante durée d'excitation, on soustrait la racine, ainsi engypsée, à l'influence directrice de la pesanteur (il suffit de la faire tourner sur un clinostat à axe horizontal). Après quelques heures, on libère l'organe tout en le laissant sur le clinostat, et l'on constate que, malgré le temps considérable qui s'est écoulé, la racine a conservé la mémoire de la sensation, puisqu'elle effectue maintenant sa courbure (Czapek, 1898).

## III. — Nature des excitants.

Dresser la liste des excitants qui mettent en jeu l'irritabilité des organismes privés des nerfs, c'est en somme dresser la liste de leurs sens. On verra que cette énumération est beaucoup plus longue qu'on ne l'imagine d'ordinaire.

On divise généralement les excitants en internes et externes. Rien n'est plus subtil, dans certains cas, que cette distinction. Lorsqu'un leucocyte est attiré par les substances qui diffusent hors d'une cellule en voie de désorganisation, — lorsqu'il est excité par le contact de l'endothélium des capillaires et qu'il se glisse dans l'interstice des cellules, il réagit vis-à-vis d'excitants qui sont externes pour lui, mais qui sont internes pour l'animal entier. Comment appellera-t-on l'excitant vis-à-vis duquel réagissent les cellules d'un jeune embryon d'Astérie, lorsque, après avoir formé un amas au centre de l'œuf (morula), elles se disposent toutes à la périphérie en une couche unique (blastula), réaction dans laquelle chaque cellule répond à des excitations que lui envoient ses voisines? Il n'y a pas de différence réelle entre ce qui se passe pour les cellules de cet embryon et ce que nous avons appris à connaître pour les cellules des bourgeons axillaires qui, elles aussi, reçoivent leurs excitations d'autres cellules, même plus éloignées (voir p. 305).

Il vaudrait peut-être mieux réserver le nom d'excitants internes à ceux qui, nés dans une cellule, déterminent la sensation et la réaction de la part d'autres organelles de cette même cellule. Ainsi, les contractions rythmiques des organismes unicellulaires, la formation des pseudopodes chez les leucocytes, les mouvements des spermatozoïdes sont régis, au moins en partie, par des excitants internes vrais. Mais, d'après cette définition, nous n'oserions donner le nom d'excitants internes qu'à ceux-là seuls dont nous constatons les effets dans des êtres unicellulaires, ou bien dans des cellules privées de tout contact, de toute connexion quelconque avec d'autres éléments.

Nous devons donc continuer à suivre l'ancienne définition, et appeler excitants internes tous ceux qui dérivent de l'organisme lui-même et dont la nature nous est inconnue, quitte à les assimiler aux excitants externes au fur et à mesure que, nos connaissances se précisant, nous parviendrons à déterminer leur nature. Ainsi, nous savons que ce sont des substances chimiques qui guident les phagocytes vers les vieilles cellules; pourquoi alors hésiterions-nous à classer cette excitation auprès des autres excitations chimiques? Quelle raison y aurait-il de la laisser dans le « coin des réprouvés », où nous reléguons les excitants internes trop peu connus?

Encore une remarque, relative à la terminologie. On a l'excellente habitude de désigner par un mot composé le réflexe tout entier. Ainsi, phototaxisme signifie : taxisme provoqué par la lumière; chimiotropisme signifie : tropisme provoqué par une substance chimique. Pour chaque excitant, j'indiquerai (*entre parenthèses*) le terme par lequel on pourrait désigner l'excitant dans le mot composé qui représente le réflexe complet. Le plus souvent, je n'ai qu'à prendre le mot usuel; parfois, quand il s'agit d'excitants qui n'avaient pas été nommés auparavant, il faudra introduire un terme nouveau.

⁂

*a*) Excitants internes. — Ces excitants sont fort difficiles à classer : nous n'avons pas la plus petite notion sur leur nature réelle. Aussi devons-nous nous contenter de les diviser en deux groupes : le premier comprenant ceux qui dépendent de l'âge; le second, ceux qui dépendent de la forme des organes.

1. *Age* (*Chrono-*). — Beaucoup de phénomènes ne se passent qu'à un certain moment de la vie : ils sont donc provoqués par des exci-

tations qui n'existent qu'à cet âge précis. Souvent, par exemple, la position des feuilles varie avec leur âge; le cas le plus typique est celui de *Yucca* (Webber, 1895) où les feuilles, d'abord dressées, s'étalent progressivement et finissent par diriger leur pointe vers le bas. Un autre exemple caractéristique de l'influence de l'âge est fourni par les vrilles des *Bryonia* et d'autres végétaux grimpants : celles qui n'ont pas saisi de support, et qui n'ont donc pas été excitées du dehors, s'enroulent néanmoins en tire-bouchon dès qu'elles sentent approcher la vieillesse.

2. *Forme* (*Morpho-*). — Toutes les innombrables réactions qui règlent les phases embryonnaires et les positions réciproques des organes sont évidemment provoquées par des excitants internes, dont les uns sont relatifs à l'âge, — les autres, à la forme préexistante. Mais ces choses sont encore trop vagues pour qu'on puisse faire à leur sujet autre chose que des hypothèses. Tout au plus peut-on indiquer quelques excitants internes dont l'origine est plus facile à localiser.

A. *Influence du sommet* (*Acro-*). — Nous avons déjà cité l'action inhibitrice que le sommet de la tige exerce sur les bourgeons axillaires. Un effet analogue se retrouve dans les racines : aussi longtemps que la pointe de la racine principale est intacte, les racines latérales sont horizontales ou obliques (Sachs, 1874); décapite-t-on la racine principale, tout de suite les racines secondaires se courbent vers le bas.

B. *Polarité* (*Polo-*). — Les plantes présentent le plus souvent une polarité telle que chaque portion d'organe, quelque courte qu'elle soit, paraît distinguer son extrémité proximale et son extrémité distale (Vöchting, 1878, 1884, 1892). De quelque façon qu'on oriente des boutures de rameaux de Saule, qu'elles soient mises en terre par le haut ou par le bas, elles produiront toujours les racines les plus vigoureuses au bout proximal (c'est-à-dire celui qui était tourné vers les racines) et les plus forts bourgeons au bout distal. De même, sur des boutures de racines de *Monstera deliciosa* (Aracée), les nouvelles racines se développent près de l'extrémité distale. Dans ces divers cas, l'organe réagit vis-à vis d'une polarité qui lui est propre.

C. *Arcure* (*Campto-*). — Quand un organe végétal qui s'est courbé, par exemple sous l'action de la pesanteur, est soustrait à l'excitant avant que l'arcure soit définitivement fixée, on voit que celle-ci s'efface complètement. La portion arquée a donc donné naissance à une excitation envers laquelle l'organe a réagi en se redressant. M. Vöchting (1882) avait donné à ce phénomène le nom de rectipétalité. L'arcure peut avoir aussi des effets plus tardifs. Sur une racine droite, les racines latérales se forment d'une façon égale sur toutes les faces. Quand la racine est arquée, elle émet une excitation inhibitrice qui empêche le développement de toutes les cellules rhizogènes situées sur la face concave [Noll, 1900 (¹)]. Elle produit aussi un excitant qui oblige toutes les racines nées sur les flancs de la racine arquée à se courber vers la convexité.

⁂

*b*) EXCITANTS EXTERNES. — Les agents externes qui mettent en jeu l'irritabilité des organismes sans nerfs peuvent être classés en trois groupes : les agents mécaniques, les agents physiques, les agents chimiques.

1. *Excitants mécaniques.*

Ce groupe comprend tous ceux qui, agissant d'une façon directe, tendraient à déplacer l'organisme.

M. Verworn (1900) réunit sous le nom de *barotaxie* toutes les réactions provoquées par une action unilatérale de la pression ; il distingue la thigmotaxie, la rhéotaxie et la géotaxie ; il se base sur l'idée de M. Jensen (1892) d'après laquelle la gravitation, au moins chez les organismes inférieurs aquatiques, agit par les différences de la pression hydrostatique. Cette idée est probablement fausse.

a) *Gravitation* (*Géo-*). — Dans cette rubrique rentre aussi la force centrifuge, qui agit exactement de la même façon que la pesanteur. Ainsi, les racines se courbent vers la terre (elles suivent le sens de la

---

(¹) L'ensemble des expériences faites par M. Noll montre bien qu'il s'agit ici d'une excitation inhibitrice sur les cellules de la face concave et non, comme il l'admet, d'une action favorisante sur les cellules de la face convexe.

pesanteur); elles se courbent aussi vers le dehors du plateau animé d'un mouvement circulaire, c'est-à-dire qu'elles suivent ici aussi le sens de la force. Des recherches récentes ont rendu probable l'idée d'après laquelle la gravitation serait perçue grâce à la pression qu'exerce sur le protoplasme pariétal la chute des grains plus denses contenus dans les cellules (Nemec, 1900, et Haberlandt, 1900).

b) *Courant liquide* (*Rhéo-*). — Beaucoup d'organismes sont sensibles aux courants du liquide dans lequel ils se trouvent (Jönsson, 1883 et Stahl, 1884, 1).

c) *Compression* (*Piézo-*). — Une compression générale peut agir comme excitant (Pfeffer, 1893) : la plante s'efforce de croître malgré la résistance qu'elle rencontre et elle exerce alors une pression qui peut s'élever à une douzaine d'atmosphères.

d) *Contact* (*Hapto-*) (¹). — Il faut éviter de confondre la compression générale avec la pression nettement localisée, chez laquelle l'excitation est déterminée, non par la pression proprement dite, mais, comme l'a montré M. Pfeffer (1885), par la *différence* de pression que supportent des points voisins : ainsi les racines, qui réagissent vis-à-vis de la compression générale par une énorme augmentation de la croissance, exécutent au contraire vis-à-vis d'un contact une courbure qui les éloigne de l'excitant (Darwin, 1882).

L'excitabilité par contact est très répandue : sous l'action d'un contact, les vrilles des plantes grimpantes se courbent, les Noctiluques s'illuminent, les filaments des *Polyporus* (Champignon) arrêtent leur croissance, les Spirilles s'immobilisent et s'aplatissent contre le corps qu'ils touchent, les leucocytes des Vertébrés poussent leurs pseudopodes vers l'excitant, les spermatozoïdes d'un grand nombre d'animaux et même d'Algues sont guidés dans l'œuf à féconder.

La sensibilité tactile est souvent d'une extrême finesse : le frottement avec un fil pesant $0^{mgr},00025$ suffit à exciter une vrille de *Sicyos* (Cucurbitacée) (Pfeffer, 1885); la minime résistance opposée par la

---

(¹) Il est plus logique de conserver le terme « hapto » qui date de 1884 (Errera), tandis que le terme « thigmo » ne date que de 1889 (Verworn, 2).

tension de la couche superficielle d'un liquide provoque des réactions tactiles de la part des leucocytes (Massart et Bordet, 1890) et de la part de beaucoup de Bactéries et de Flagellates (Massart, 1890).

e) *Secousse* (*Sio-*). — Bien différente de l'excitation produite par le contact est celle que donne la secousse : les vrilles, qui répondent à un attouchement même très faible, subissent sans la moindre réaction les secousses les plus violentes; d'autre part, la Sensitive réagit beaucoup mieux à un choc qu'à une pression.

f) *Traction* (*Elco-*). — M. Hegler (v. Pfeffer, 1891) a fait connaître des exemples de plantes qui réagissent vis-à-vis d'une traction : la réaction consiste en un abaissement de la vitesse de croissance en longueur et en une multiplication des éléments résistants (fibres, etc.) que contient l'organe.

2. *Excitants physiques.*

Presque toutes les forces physiques peuvent amener des réactions chez les êtres privés de système nerveux; il n'y a d'exception que pour le magnétisme et les rayons X.

a) *Lumière* (*Photo-*) (1). — L'excitabilité lumineuse est des plus répandues : elle existe non seulement chez presque tous les êtres pourvus d'une chromophylle, mais en plus chez un grand nombre d'organismes incolores.

b) *Obscurité* (*Scoto-*). — Le plus souvent, l'obscurité ne doit pas, comme excitant, être séparée de la lumière; elle agit simplement comme absence plus ou moins complète de lumière. Pourtant il y a quelques cas spéciaux où elle agit comme excitant spécial. Ainsi, dans les cellules à plastides vertes des végétaux, les plastides prennent à l'obscurité une position différente de celles qu'elles occupent à la lumière, mais les deux positions ne sont pas inverses l'une par rapport à l'autre (Stahl, 1880).

c) *Chaleur* (*Thermo-*). — Cet excitant est encore plus universel que la lumière; il détermine directement de nombreuses ripostes, il exerce une influence très marquée sur l'allure et la marche de presque toutes les réactions, enfin il est indispensable pour mettre le protoplasme en état de réagir (¹). Le plus souvent, les réactions sont accélérées à une température moyenne, tandis qu'elles se ralentissent aux températures plus hautes ou plus basses.

---

(1) Il paraît préférable d'employer toujours le terme « photo » pour désigner la lumière, que de dire tantôt « photo », tantôt « hélio ».

d) *Froid* (*Cryo-*). — Il y a pourtant quelques cas dans lesquels le froid n'agit pas simplement comme absence de chaleur, mais où il a une action propre. Ainsi, chez *Stylonychia Mytilus* (Infusoires Hypotriche), les mouvements ciliaires s'accélèrent aussi bien sous l'action du froid (6°) que sous celle de la chaleur (30°); même, pour les cils marginaux l'excitation par le froid dépasse notablement celle que donne la température de 30° (Pütter, 1900).

e) *Ondulations hertziennes* (*Hertzo-*). — Le *Phycomyces* (Champignon) exécute une courbure qui l'éloigne de la source des vibrations (Hegler, 1891). Les ondulations avaient des longueurs de 0$^{m}$,75 à 2 mètres.

f) *Électricité* (*Électro-*) (²). — Son action sur les végétaux supérieurs est loin d'être suffisamment connue. Quant à son influence sur les organismes inférieurs, elle a été mise en évidence par les travaux de M. Verworn (1889) : beaucoup de Rhizopodes, de Flagellates et d'Infusoires prennent, sous l'influence du courant, une direction définie, soit vers l'anode, soit vers la cathode.

g) *Pression osmotique* (*Tono-*) (³). — Beaucoup d'organismes unicellulaires et de végétaux effectuent des réactions variées qui sont provoquées par la pression osmotique du milieu. Les réactions consistent en des mouvements et en des modifications de la pression intracellulaire. Les êtres inférieurs marins sont le plus souvent excités

---

(¹) M. af Klercker (1891) distingue le thermotropisme (réaction vis-à-vis de la chaleur rayonnante) du caloritropisme (réaction vis-à-vis de la chaleur arrivant par conduction). Il est certain que dans l'organisme, — quelle que soit la façon dont la chaleur est parvenue aux cellules, — elle devient intégralement de la chaleur conduite. Il ne me semble donc pas que la distinction soit justifiée.

(²) Il n'y a aucun avantage à conserver les deux termes « électro » et « galvano ».

(³) Je ne vois pas l'avantage qu'il y aurait à remplacer le terme ancien « tono » par le terme « osmo » (Rothert, 1901).

par les solutions trop fortes comme par les solutions trop faibles (Massart, 1891); chez les plantes, toutes les cellules étudiées ont réagi également vis-à-vis de solutions hypotoniques et vis-à-vis de solutions hypertoniques (Van Rysselberghe, 1899).

Contrairement à l'avis de M. Pfeffer (1888) et de M. Verworn (1900), l'action excitante des solutions n'est pas due aux propriétés chimiques du corps dissous. On peut se demander avec M. Rothert (1901) si elle ne tiendrait pas à la sortie de l'eau du protoplasme, — en d'autres mots, si la sensation qu'éprouvent les cellules quand elles sont baignées par une solution plus forte que la solution habituelle n'est pas celle d'une sortie de l'eau à travers le protoplasme; et si, dans les conditions inverses, elles ne sentent pas une pénétration d'eau. Même si la chose était démontrée, si la sensibilité à la concentration devenait un cas particulier de la sensibilité des échanges d'eau, il faudrait pourtant provisoirement conserver la distinction entre les deux modes d'excitation (Rothert, 1901), jusqu'à ce que l'on puisse, pour tous les excitants, remplacer l'excitation par la sensation.

3. *Excitants chimiques.*

Les excitants chimiques (*Chimio-*), c'est-à-dire ceux où les caractères chimiques des substances sont seules en jeu, — à l'exclusion de leurs propriétés mécaniques ou physiques, — sont probablement les plus importants de tous pour le fonctionnement régulier de l'organisme.

Pour la plupart d'entre eux, nous devons nous contenter d'indiquer que l'excitant est de nature chimique, sans pouvoir préciser les détails. Parfois les corps les plus divers, entre lesquels semble n'exister aucun caractère commun, produisent pourtant les mêmes effets : par exemple, les substances qui provoquent l'attraction des Bactéries (Pfeffer, 1888) et celles qui font briller les Noctiluques. Le plus souvent nous ignorons quels sont les corps chimiques qui agissent : ainsi, la division cellulaire chez les Phanérogames blessées se présente avec tous les caractères d'une réaction vis-à-vis de substances chimiques, mais on ignore quelles sont ces substances (Massart, 1898).

Il n'y a que quelques cas dans lesquels une réaction bien définie est provoquée par un seul corps ou par un petit groupe de corps.

a) *Oxygène* (*Aéro-*). — Il donne des réactions très caractéristiques et pour lesquelles il ne peut être remplacé par aucun autre corps. Presque toujours, quand les organismes sont mobiles, ils se dirigent vers l'oxygène, au moins jusqu'à une certaine tension (Engelmann, 1881). Pourtant, M. Rothert (1901) vient de décrire une Bactérie qui fuit l'oxygène à toute concentration.

b) *Alcalis* (*Alcalio-*) *et acides* (*Oxy-*). — Des effets propres aux alcalis n'ont pas été observés souvent. De petites Amibes, qui ont dans leur milieu habituel la forme de limaces, avec un unique et large pseudopode antérieur, deviennent radiées quand on les transporte dans une solution alcaline (Verworn, 1896). Les *Euglena*, *Eutreptia* et autres Flagellates voisins contractent leur corps d'une façon caractéristique (voir plus loin, p. 327); en outre, ils nagent à l'aide de fouets. Dans un milieu neutre, les deux formes de mouvement coexistent; quand on ajoute au liquide un peu d'alcali, les battements du fouet se ralentissent et cessent bientôt, tandis que les contractions s'exagèrent. Il suffit d'acidifier le liquide pour voir reparaître les mouvements des fouets; la cellule est alors rigide.

c) *Narcotiques* (*Narco-*). — Ces excitants sont caractérisés, non par leur constitution chimique, mais par la façon dont ils modifient l'irritabilité : tous ces corps ont pour effet d'abaisser notablement la vitesse des réflexes. D'après tout ce que nous savons, leur action se porte sur la sensation; il est donc tout à fait illogique de faire rentrer leurs effets dans la catégorie des « paralysies », comme le fait M. Verworn (1900). D'ailleurs il n'y a pas de différence fondamentale entre un phénomène « d'excitation » et un phénomène de « paralysie ». Ne voyons-nous pas la chaleur accélérer énormément la croissance d'une plante, ou la ralentir jusqu'à l'arrêt complet, simplement d'après le degré de température? Il n'y a pourtant pas là deux excitants différents. De plus, est-ce qu'une excitation affaiblissante n'est pas une excitation au même titre qu'une excitation renforçante ou une excitation inhibitrice? Est-ce que l'affaiblissement, le renforcement, l'arrêt... d'un réflexe en cours d'exécution ne sont pas tous des réflexes qui se manifestent par une modification quantitative de la réaction?

La distinction radicale entre « phénonèmes d'excitation » et « phénomènes de paralysie », telle que la fait M. Verworn, n'a donc aucune raison d'être. A notre avis, les narcotiques doivent être rangés dans la catégorie des excitants, tout comme d'autres corps chimiques. S'il n'en était pas ainsi, il faudrait aussi enlever le titre d'excitant à l'oxygène quand il arrête les mouvements de certaines Bactéries anaérobies. Non, tous ces agents sont vraiment des excitants, même quand le réflexe qu'ils provoquent a pour effet final l'affaiblissement ou l'arrêt d'une autre réaction.

d) *Eau* (*Hydro-*). — L'eau est indispensable à l'accomplissement de tous les phénomènes vitaux. Mais à côté de cette influence générale, elle exerce aussi des effets plus spéciaux. A l'état de vapeur, elle provoque des courbures de la part de beaucoup de plantes : les racines des Phanérogames se dirigent vers l'air le plus humide (Sachs, 1872). Pour agir comme excitant, la vapeur ne doit pas nécessairement être répandue d'une façon asymétrique : le degré d'humidité ou de sécheresse de l'atmosphère peut aussi influencer les végétaux, notamment pour l'épaississement de la cuticule (Kohl, 1886). A l'état liquide, l'eau a également des effets très accusés. Une même plante présentera des caractères très différents suivant qu'elle a poussé à l'air humide ou dans l'eau. Parfois même, on verra une feuille allongée (par exemple *Stratiotes aloides*) avoir des caractères aquatiques dans sa moitié inférieure, plongeant dans l'eau, et des caractères de plante aérienne dans sa partie émergée. Aucune explication plausible n'a été fournie sur la façon dont la plante sent, dans ce cas, la présence de l'eau.

Il est permis de se demander si, dans ses modes d'action si divers, l'eau doit réellement être toujours rangée dans la catégorie des agents chimiques. Peut-être agit-elle tantôt comme protoxyde d'hydrogène, tantôt comme dissolvant et ionisant, alors que, dans d'autres cas, l'organisme réagit vis-à-vis du courant transpiratoire.

## IV. — Nature des réactions.

### *A.* — Réactions préparatives ou tonus.

Tout organisme, par cela même qu'il vit, est le siège d'une activité incessante dont chaque manifestation est une réaction vis-à-vis de quelque excitant. Les réactions grossières et brutales, les seules que l'observation atteigne, ne sont que des modifications de ces réflexes élémentaires, trop délicats et trop fugitifs pour être perceptibles. Mais ils n'en sont pas moins très importants : n'est-ce pas à eux que le protoplasme vivant doit de rester dans cet état de perpétuelle labilité qui est la caractéristique de la vie? Ces réactions sont préparatives, en ce sens que, sans se manifester par aucun effet extérieur, elles sont néanmoins nécessaires pour préparer le protoplasme : elles le mettent en état de répondre à d'autres excitants par des réactions qui, elles, seront visibles.

Un exemple précis fera mieux comprendre de quels phénomènes il est question ici. Une graine sèche ne répond à aucun excitant. Fournissez-lui de l'eau et voilà qu'aussitôt elle est apte à présenter les phénomènes si complexes de la germination ; à partir de ce moment elle est devenue excitable par les narcotiques; toute variation de la température se répercute dans sa vitesse de croissance... Bref, l'eau a tiré la graine de sa rigidité ; elle a préparé le protoplasme à subir les effets d'autres excitants.

Trop peu nombreux, malheureusement, sont les exemples où nous connaissons l'excitant vis-à-vis duquel l'organisme répond par une réaction préparative. Les plus typiques de ces cas ont reçu le nom de *tonus* (par exemple phototonus); il serait logique d'étendre ce terme à toutes les réactions préparatives, quitte à indiquer que la plupart des tonus sont provoqués par des excitants internes, encore inconnus.

L'hydrotonus qui vient d'être décrit a pour effet de préparer le protoplasme de la graine à recevoir une foule d'excitations. Mais d'ordinaire le tonus est plus spécialisé : il met l'organisme en état de répondre envers un seul excitant ou envers un petit groupe d'excitants. Contentons-nous d'indiquer quelques exemples.

Lorsque deux individus de Sensitive (*Mimosa pudica*) sont placés, l'un à la lumière constante, l'autre à l'obscurité constante, leurs feuilles continuent à présenter pendant plusieurs jours les « mouvements de veille et de sommeil » qu'elles effectuent dans les conditions normales. Mais peu à peu les mouvements deviennent moins étendus, pour s'arrêter bientôt tout à fait. En ce moment, les deux plantes sont dans des états fort différents : celle qui est restée à la lumière a conservé intacte son irritabilité, et il suffit de l'obscurcir un instant pour qu'aussitôt ses feuilles se referment; l'autre au contraire est rigide; elle ne répond à l'excitant lumineux que si on lui rend son irritabilité par une longue exposition à la lumière. Pour que la Sensitive soit en état de répondre par un mouvement à une excitation externe, il faut donc que son protoplasme ait été préparé par un tonus, provoqué par la lumière (phototonus). (Voir notamment Pfeffer, 1875.)

Dans le phototonus de la Sensitive, la lumière agit simplement par son intensité. L'exemple suivant montre une spécialisation plus grande de l'excitant : il ne suffit pas que l'excitant ait l'intensité voulue; il faut encore qu'il influence la plante dans une direction définie.

MM. Schwendener et Krabbe (1892) ont fait voir que très souvent la lumière ne provoque la torsion d'un organe végétal que si cet organe est en même temps soumis à une certaine excitation de la part de la pesanteur. Voici un cas que j'ai eu l'occasion d'étudier. Les branches horizontales de *Russelia sarmentosa* (Scrophulariacée) tordent leurs entrenœuds alternativement à droite et à gauche; cette réaction est provoquée, dans ses traits essentiels, par la lumière unilatérale que perçoivent les feuilles jeunes, ainsi qu'on peut s'en assurer en enlevant les feuilles ou en les enfermant dans un papier d'étain : dans ces conditions, la torsion ne s'effectue pas. Seulement, l'éclairement inégal ne suffit pas à lui seul : jamais un rameau vertical, et éclairé horizontalement, ne présente la moindre torsion : il a donc fallu que la pesanteur, agissant transversalement sur le rameau, provoquât un géotonus qui met le protoplasme en état de réagir par une torsion vis-à-vis de l'excitant lumineux.

⁂

Avant de passer aux réactions modificatives, faisons remarquer qu'il n'y a pas de séparation absolue entre elles et les tonus. Ainsi, une certaine dose de chaleur est nécessaire pour qu'une cellule soit prête à recevoir les excitants qui provoquent sa division; mais la chaleur, après avoir fonctionné comme excitant du thermotonus, va maintenant agir comme excitant modificateur, puisque la vitesse avec laquelle s'effectuera la division de la cellule (temps de riposte) dépend de la température. Comment séparer la chaleur du thermotonus de la chaleur comme excitant de la réaction modificative? Et dans l'exemple de la Sensitive qui a séjourné à l'obscurité et qui ne redevient sensible à la lumière qu'après une longue exposition à cet agent, à quel moment la lumière cesse-t-elle d'être l'excitant du thermotonus pour devenir l'excitant du mouvement?

## *B.* — Réactions modificatives.

Nous avons vu plus haut que les seuls réflexes dont les réactions s'extériorisent par un effet visible sont ceux qui consistent en une modification grossière des réflexes élémentaires. Encore ne connaissons-nous en général que l'excitation qui est au début du réflexe et la manifestation brutale, le coup de théâtre qui le termine; car, comment nous renseigner sur les phénomènes qui se succèdent, depuis le moment où l'excitant tombe au milieu de la pièce compliquée qui se joue dans le protoplasme jusqu'à celui où nous assistons tout à coup au dénouement? Si nous avions nos entrées dans les coulisses, si nous assistions de près à toutes les péripéties de l'intrigue, nous verrions sans doute que les acteurs sont restés les mêmes, et qu'à partir de l'instant où le perturbateur est entré en scène, ils ont simplement modifié leur jeu : certains d'entre eux gagnant plus d'importance, d'autres passant à l'arrière-plan. De même, la réaction finale d'un réflexe n'est que la suite de changements dans la vitesse et l'intensité des réactions élémentaires. Toutefois, la simplicité des moyens n'exclut pas la variété des résultats : si certaines réactions ne nous apparaissent que sous l'aspect de *modifications quantitatives* de ce qui existait déjà lorsque l'excitant est arrivé, d'autres sont manifestement des *modifications qualitatives*, plus profondes. Or, comme nous ignorons ce qui se passe réellement, nous ne pouvons étudier et classer que les seuls effets apparents des réflexes. — Pour la facilité, nous donnerons aux modifications quantitatives le nom d'*interférences*, et aux modifications qualitatives, généralement plus brèves et plus brusques, le nom de *ripostes*. Afin que les noms de ces réactions indiquent à quelle catégorie elles appartiennent, les noms des interférences se termineront en *-ose*, ceux des ripostes, en *-isme*.

Deux exemples feront, mieux qu'une définition toujours boiteuse, saisir la différence qui sépare les deux genres de réactions.

*Premier exemple.* — Voici un Infusoire, par exemple un *Vorticella*, en pleine activité; sa vacuole contractile bat avec régularité. Aussi longtemps que les conditions externes restent les mêmes, ses pulsations ont un rythme constant.

*a*) Mais toute variation de température modifie ce rythme : la chaleur accélère les battements, le froid les ralentit.

*b*) L'acide carbonique agit aussi comme excitant. Sous son influence, les battements s'espacent toujours davantage, les systoles ne s'effectuent plus que lorsque la vacuole s'est beaucoup agrandie; finalement, la vacuole s'arrête en diastole (Rossbach, 1872).

*c*) Si la nourriture fait défaut, l'organisme s'encyste. Pendant que le cyste se prépare, les battements de la vacuole deviennent plus lents; l'agrandissement complet ne se fait plus; les systoles surviennent alors que la vacuole est encore toute petite : et bientôt elle s'arrête, en systole, cette fois.

*d*) Nous pouvons, sans tirer l'organisme encysté de sa torpeur, remettre en activité la vacuole seule; il suffit de déposer le cyste dans une solution saline, par exemple $AzO^3K$ à $^{18}/_{100\,000}$ mole. Le lendemain, l'Infusoire s'étant adapté à ce milieu, la vacuole a disparu. Une seconde excitation, par une solution à $^{25}/_{100\,000}$ mole, la fait réapparaître (Massart, 1889).

Les diverses réactions que nous venons de citer constituent toutes des modifications purement quantitatives du battement de la vacuole : l'accélération, le ralentissement, l'arrêt, le réveil, sont donc autant d'interférences.

*e*) Il n'en est plus ainsi pour un phénomène que présente un autre Infusoire, le *Paramaecium Aurelia.* Sous l'action d'une température de 50° à 55°, celui-ci forme tout à coup dans son protoplasme des vacuoles pulsatiles nouvelles, dont le rythme est le même que celui des vacuoles normales (Massart, 1901). — Ici nous avons évidemment affaire à une modification qualitative. Car, quels que fussent les réflexes élémentaires qui s'effectuaient dans le protoplasme au moment où nous avons appliqué la chaleur, il est certain que la *production* de vacuoles contractiles est une réaction essentiellement différente de celles qui se produisaient auparavant.

*Deuxième exemple.* — Prenons une tige adulte, dont le péricycle est composé de cellules au repos.

*a*) Une excitation appropriée provoque, dans les réflexes élémentaires de quelques cellules du péricycle, des changements dont nous ignorons la nature, mais qui se traduisent par la division de ces cellules et par la formation d'un point végétatif de racine : un organe nouveau a pris naissance (modification qualitative ou riposte).

*b*) Sous l'influence d'excitants internes et externes, cette racine s'accroît. Supposez à présent qu'elle soit mise horizontalement : la gravitation n'agit plus de la même façon sur toutes les faces, et la racine courbe sa pointe vers la terre. Un organe primitivement droit a subi une courbure; c'est encore une riposte.

*c*) Pendant que la courbure s'exécute, faisons varier la température : aussitôt nous constatons un changement dans la vitesse avec laquelle se fait la courbure. La modification introduite par l'abaissement ou l'élévation de la température est quantitative; il y a eu simple interférence de la température avec les facteurs qui étaient en jeu jusqu'alors.

*d*) Dès que la racine est redevenue verticale, elle recommence à s'allonger vers le bas, d'une croissance régulière et constante, tant que l'activité protoplasmique n'est pas troublée. Mais si nous mettons la racine à la lumière, les diverses réactions qui, par leur combinaison, déterminent l'allongement, se trouveront ralenties; nous créons de nouveau une interférence.

*e*) Considérons à présent la racine devenue plus âgée. Dans les portions droites, les cellules rhizogènes, qui sont répandues d'une façon symétrique, se développent toutes également et la racine se garnit sur toute sa surface de racines secondaires. Mais sur la face concave de la portion arquée, les excitants qui déterminent le développement des racines sont contrecarrés par des excitants inhibiteurs, et, comme résultat final du conflit, les racines manquent sur la face concave. C'est encore une interférence; elle a réduit la réaction à tel point que toute manifestation extérieure fait défaut.

⁂

Comme on le voit, la modification quantitative ou interférence consiste en un changement de la vitesse ou de l'intensité avec laquelle s'accomplit une réaction. La modification qualitative ou riposte ne diffère peut-être pas de l'interférence par la nature des changements protoplasmiques qui l'amènent, mais le résultat appréciable est tout autre : nous avons ici la création d'une chose neuve qui ne se serait pas produite, même à l'état d'ébauche, si l'excitant n'avait pas agi.

Pourtant, gardons-nous bien de nous faire des illusions sur la valeur réelle de la distinction en interférences et ripostes. Il me suffit que ce groupement constitue un progrès comparativement à ce qui avait été proposé jusqu'ici; mais, de même qu'il faudrait pouvoir substituer la classification des sensations à celle des excitations, de même il n'y aura de progrès définitif que le jour où l'on pourra remplacer la connaissance des réactions extérieures par celle des processus délicats qui se cachent dans le protoplasme. Les mots « interférence » et « riposte » n'ont donc dans mon esprit qu'une signification relative et provisoire.

Comme les ripostes sont mieux étudiées que les interférences, c'est par celles-là que nous commencerons.

### I. — Modifications qualitatives, ou ripostes.

La riposte ne peut être caractérisée que par l'effet final, sans qu'il y ait lieu de tenir compte des changements subis par les réactions élémentaires qui s'effectuaient au moment de l'excitation, ni des multiples réactions qui ont dû former une chaîne continue depuis l'excitation jusqu'à ce que l'effet fût devenu visible. Ainsi, nous savons qu'une courbure géotropique est amenée par des modifications unilatérales de la croissance en longueur, et qu'elle est fixée par l'afflux unilatéral de protoplasme et par l'épaississement unilatéral des parois cellulaires; mais c'est néanmoins la courbure elle-même qui, seule, doit caractériser cette riposte. — Autre exemple. Voici un *Colpidium* (Infusoire) dont la natation calme n'est régie en ce moment que par des excitants internes; les cils battent d'une façon rythmique et l'organisme suit une ligne hélicoïdale. Tout à coup un excitant externe vient modifier le jeu des cils. L'Infusoire perçoit-il une secousse violente : il va aussitôt renverser le sens des mouvements ciliaires et se jettera brusquement en arrière (phobisme). Si l'excitant est une solution légèrement hypertonique, les battements des cils frontaux s'exagéreront et l'individu s'inclinera vers la face dorsale (clinisme). Enfin, si c'est le courant électrique qui agit, les cils frontaux battront plus fort, mais toujours vers la bouche, tandis que les autres cils battront dans une direction qui sera déterminée par le sens du courant; finalement l'Infusoire sera orienté parallèlement au courant, avec le bout antérieur vers la cathode (taxisme). — Toutes ces diverses réactions sont produites par des modifications des mouvements ciliaires. Toutefois nous allons les considérer comme autant de réactions différentes.

Les ripostes peuvent être groupées dans quatre rubriques : ripostes formatrices; ripostes motrices; ripostes chimiques; enfin celles qui ne rentrent dans aucune des catégories précédentes.

#### 1° Ripostes formatrices.

Ce sont celles qui donnent naissance à des cellules ou à des organes. Les cellules ou les organes ont toujours une orientation ou une localisation déterminée par rapport à l'excitant ou par rapport au corps. Dans ce dernier cas, c'est aussi, en somme, vis-à-vis d'un excitant interne que les nouvelles cloisons cellulaires s'orientent. Nous savons, par exemple, que dans les spores d'*Equisetum* en germination, la première cloison est toujours perpendiculaire à la direction de la lumière (Stahl, 1885). L'influence directrice de l'excitant est ici évidente; mais quand on voit sur le point végétatif de *Halopteris* (Algue) se former des cloisons longitudinales, d'autres perpendiculaires à l'axe, d'autres faisant avec l'axe un angle défini, et ces diverses cloisons se suivre dans un ordre fixe, peut-on douter que cette régularité soit amenée par des excitants internes?

α) *Mérisme.* — Division de cellules, division d'organelles de la cellule, ou division dichotomique d'organes. La nature réactionnelle de ces divisions n'est pas douteuse: malheureusement nous ne connaissons presque dans aucun cas l'excitant du mérisme.

β) *Néisme.* — Création en un point donné d'organes nouveaux; par exemple, formation de racines sur une bouture, formation de bourgeons sur les blessures des *Fucus* (Algues), naissance de racines sur les tiges de la Cuscute aux points de contact avec l'hôte.

### 2° RIPOSTES MOTRICES.

Chez les organismes mobiles, il y a deux sortes de mouvements à considérer : *a*) les déplacements, produits le plus souvent par des cils (et des fouets) ou des pseudopodes, parfois par des contractions protoplasmiques internes; *b*) les mouvements angulaires, résultant d'une modification dans le fonctionnement des cils, des fouets ou des pseudopodes. Les plantes fixées à leur support ne peuvent effectuer que des mouvements angulaires, résultant le plus souvent de modifications de la croissance en longueur.

Il importe d'indiquer avec précision la signification des mouvements angulaires chez les organismes mobiles. L'accumulation des Euglènes (Flagellates) dans les endroits les plus éclairés d'un liquide est due à la collaboration de deux ripostes : un mouvement angulaire qui opère l'orientation des Flagellates vers la lumière et dont l'action cesse dès que ce résultat est atteint (taxisme), puis un mouvement de natation (nectisme) qui les transporte en avant. Le taxisme a donc pour unique effet d'aiguiller les Euglènes dans la bonne direction et de les y maintenir si elles s'en écartent. Quand nous disons : « le phototaxisme amène les Euglènes vers la source lumineuse », nous supprimons sciemment dans notre phrase la seconde réaction; il faut ne jamais oublier que nous faisons cette élision. Voici un autre exemple. L'accumulation des Bactéries dans un tube capillaire contenant une solution d'extrait de viande est due aussi à deux réactions différentes : la natation (nectisme) amène, par hasard, les Bactéries devant l'orifice du tube, dans la sphère de diffusion de l'extrait de viande; à partir de ce moment, les microbes sont prisonniers dans une trappe, car dès que les mouvements de natation tendent à leur faire franchir la limite de la sphère de diffusion, un brusque mouvement de recul les rejette en arrière devant l'entrée du tube (Rothert, 1901); tous les individus finissent par entrer dans le tube; une fois qu'ils y ont pénétré, la même riposte (phobisme) qui les maintenait dans la zone de diffusion les empêchera dorénavant de sortir du tube. Comme on le voit, il n'y a pas ici le moindre taxisme en jeu : à aucun moment il n'y a de mouvement angulaire, et l'accumulation des Bactéries est due uniquement à deux ripostes de déplacement.

*A*. **Déplacements.** — Nous ne traiterons que de ceux qui sont produits par des moyens biens connus, laissant de côté les mouvements des Oscillatoriacées, des Beggiatoacées, des Diatomées, des Grégarines, etc.

α) *Nectisme.* — Natation à l'aide de cils ou de fouets, chez les Schizomycètes, les Flagellates, les zoospores de Rhizopodes, d'Algues et de Champignons, les Infusoires, presque tous les spermatozoïdes, et beaucoup de larves très jeunes. Chez les êtres unicellulaires, la natation n'est généralement pas rectiligne : elle se fait suivant une ligne hélicoïdale qui résulte, ou de la façon dont battent les organelles moteurs, ou de la forme du corps.

β) *Herpisme.* — Reptation à l'aide de pseudopodes de forme très variable. Les Rhizopodes, les Flagellates inférieurs et certains Sporozoaires, les leucocytes, quelques zoospores et spermatoïdes présentent ce mode de locomotion. Dans cette rubrique, on peut aussi faire entrer les mouvements protoplasmiques intracellulaires : rotation et circulation.

γ) *Phobisme.* — Brusque recul exécuté par beaucoup d'organismes en présence d'excitants « désagréables ». Cette riposte avait été en premier lieu observée chez une Bactérie par M. Engelmann (1882), qui lui donne le nom de *Schreckbewegung*, terme que je traduis par phobisme. M. Jennings (1897 et 1899) a étudié le phobisme chez *Paramaecium Aurelia* (Infusoire) où il est très fréquent : c'est de cette façon que cet Infusoire réagit envers les substances chimiques, les solutions concentrées, la chaleur, la secousse, etc.; l'auteur confond le phobisme et le taxisme. Tout récemment, M. Rothert (1901) l'a réétudié chez diverses Bactéries; il ne le sépare pas non plus du taxisme. En réalité, le phobisme est tout différent du taxisme; il est caractérisé par un recul direct, c'est-à-dire par le fait que l'organisme, sans exécuter de rotation autour d'un axe transversal, se met à nager vers le bout qui auparavant était dirigé en arrière.

δ) *Protéisme.* — Raccourcissement, plus ou moins brusque, de l'axe longitudinal (ce qui modifie fortement la forme du corps). Beaucoup d'organismes inférieurs (Grégarines, Flagellates, Infusoires) peuvent contracter leur corps au point que l'axe longitudinal devient plusieurs fois plus court que le diamètre tranversal; en même temps le corps exécute souvent des mouvements en accordéon, notamment chez les Flagellates (*Euglena, Eutreptia*), où ces mouvements avaient reçu le nom de métabolisme. Chez certaines formes, la contraction n'est pas symétrique et l'axe du corps se courbe.

On peut faire entrer dans cette rubrique les mouvements qu'exécutent les pédicelles de beaucoup d'Infusoires Péritriches fixés (*Vorticella*, etc.).

*B.* MOUVEMENTS ANGULAIRES. — Ce sont les ripostes qui amènent l'axe du corps tout entier (organismes mobiles) ou l'axe d'un organe (plantes fixées) dans une position qui fait un angle avec la position primitive; elles ne déterminent jamais aucun transport du corps.

Dans sa nouvelle position, l'axe de l'organe ou de l'organisme est orienté soit par rapport à l'excitant, soit par rapport au corps de l'organisme en question. Ce dernier cas peut se présenter même lorsque l'excitant vient du dehors; ainsi, les variations de l'éclairage provoquent des courbures dans les feuilles d'*Oxalis* et de beaucoup d'autres plantes : les folioles s'écartent ou se rapprochent, c'est-à-dire qu'elles prennent des positions bien définies par rapport au pétiole, mais nullement par rapport à la lumière. — Je puis aussi renvoyer à l'exemple de *Colpidium* (voir p. 324) : nous avons vu que, sous l'influence d'un excitant externe nettement localisé (solution trop concentrée), l'Infusoire a pourtant effectué une réaction (clinisme) qui n'est pas du tout orientée par rapport à cet excitant.

Nous étudierons séparément les ripostes orientées par l'excitant externe lui-même et les ripostes dont le sens est défini par le corps, c'est-à-dire par un excitant interne. La différence entre les deux catégories consiste donc dans le fait que, dans la première, l'orientation est visiblement déterminée par l'agent extérieur (géotropisme), tandis que, dans la seconde, elle est en entier sous la dépendance d'excitants internes (exonastisme des fleurs lors de leur épanouissement) ou, tout au moins, un excitant interne vient *guider* la riposte qu'a provoquée l'excitant externe (mouvements de « veille et de sommeil » des feuilles).

Dans ce dernier cas, l'agent extérieur n'intervient que par son intensité, tandis que dans les cas où l'excitant externe oriente la riposte, il agit, non seulement par son intensité, mais encore et surtout par sa direction; par exemple, dans la courbure des filaments aériens de *Phycomyces* (Champignon) vers la lumière.

De même que dans toute classification sincère et naturelle des choses de la vie, nous rencontrons ici des cas embarrassants. Ainsi, nous avons vu plus haut qu'une racine qui vient d'exécuter une courbure tend à se redresser (v. p. 311); — et que si la courbure est maintenue, les racines nées sur les flancs se courbent vers le dehors (v. p. 311). Voilà des exemples de ripostes dont l'orientation est relative à un excitant d'origine connue; mais, comme l'orientation est en somme relative au corps de la plante, nous rangerons ces réflexes dans la seconde catégorie.

1° RIPOSTES ORIENTÉES PAR RAPPORT A L'EXCITANT EXTERNE. — Par orientation de l'organe après riposte, nous entendons uniquement la direction de la partie qui perçoit l'excitant externe. Ainsi, quand nous disons qu'une fleur de Pensée se dirige vers la lumière, nous ne considérons que la position finale de la fleur elle-même, en faisant abstraction des directions, souvent fort insolites, qu'affecte le pédicelle.

Au point de vue de l'orientation vis-à-vis de la lumière, les Desmidiacées présentent une particularité très curieuse : elles tournent vers la lumière alternativement les deux bouts (Stahl, 1880).

α) *Taxisme.* — Déviation du corps des organismes unicellulaires et des larves; par exemple électrotaxisme (v. p. 514), phototaxisme (v. p. 502).

β) *Tropisme.* — C'est la courbure bien connue qu'exécutent les organes végétaux, par exemple géotropisme (v. p. 522).

γ) *Strophisme* (1). — Torsion effectuée par les organes végétaux, par exemple, photostrophisme (v. p. 519).

2° RIPOSTES ORIENTÉES PAR RAPPORT AU CORPS. — α) *Clinisme.* — Inclinaison de l'axe du corps, chez les êtres unicellulaires, de telle façon que l'axe fasse un angle avec la direction primitive (Jennings, 1897, 1899, 1900). Dans les cas les mieux connus, le clinisme est déterminé par d'autres cils que le taxisme (Pearl, 1900). Il est donc relativement facile de distinguer les deux ripostes, ce que M. Jennings a négligé de faire. Chez les Flagellates, la distinction est plus difficile, puisque ce sont les mêmes fouets qui agissent. Enfin, chez les Amibes et les autres cellules à pseudopodes, il est évidemment impossible de séparer le clinisme, le taxisme et même le phobisme, puisque le corps ne possède à aucun moment un axe défini.

β) *Nastisme* (2). — Courbure qu'exécutent les organes végétaux sous l'influence d'excitants très variés. Souvent ils sont confondus avec les tropismes. Citons notamment les courbures, généralement vers la face ventrale, qu'effectuent beaucoup d'organes horizontaux, par exemple les rameaux rampants de *Lysimachia Nummularia* (Primulacée); les mouvements d'ouverture et de fermeture des fleurs, la « veille et le sommeil » des feuilles, le redressement d'organes courbés récemment.

---

(1) MM. Schwendener et Krabbe (1892) appelaient cette riposte « tortisme ». C'est M. Czapek (1898) qui a introduit le terme actuel.

(2) Le mot « nastie » a été employé en premier lieu par M. H. de Vries (1872) dans le sens où nous l'employons.

γ) *Hélicisme.* — Torsion qui survient chez les organes végétaux, le plus souvent à un âge déterminé, par exemple vrilles (v. p. 310), fruit de *Streptocarpus*, etc.

### 3° Ripostes chimiques.

Il est évident que toute riposte quelconque est accompagnée de changements chimiques; sinon d'où viendrait l'énergie nécessaire? Mais certains réflexes se manifestent uniquement par un phénomène d'ordre chimique; par exemple, la sécrétion de zymases chez un *Drosera* (plante carnivore) qui a capturé un insecte; la sécrétion d'un acide dans les vacuoles alimentaires d'un Protozoaire (Le Dantec, 1890); la formation de matières mucilagineuses chez beaucoup d'organismes inférieurs (Klebs, 1886). Il y a sans doute de nombreux autres cas où un corps qui n'existait pas se forme après une excitation appropriée; mais ces phénomènes sont loin d'être assez connus.

### 4° Ripostes diverses.

Les organismes inférieurs présentent un certain nombre de ripostes qui ne rentrent dans aucune des catégories précédentes. On peut citer notamment les suivantes :

α) *Photisme.* — Dégagement de lumière sous l'influence d'un excitant, par exemple chez la Noctiluque (Massart, 1893).

β) *Bolisme.* — Expulsion des trichocystes ou d'autres organelles analogues chez divers Infusoires (Massart, 1901).

γ) *Sphygmisme.* — Formation de vacuoles contractiles nouvelles par l'action d'un excitant (Massart, 1901).

### 2. — Modifications quantitatives, ou interférences.

Nous avons vu plus haut (p. 20) que le terme « interférence » signifie toute modification quantitative des réflexes élémentaires qui étaient en train de s'accomplir au moment où l'excitant est arrivé.

Mais il y encore d'autres modifications quantitatives qui doivent être désignées par le même terme. Ce sont celles qui affectent l'allure (vitesse, intensité et direction) des ripostes que nous avons passées en revue dans le chapitre précédent : une division cellulaire (mérisme), une courbure orientée vers un excitant extérieur (tropisme)... exigent un temps donné pour leur accomplissement. Or, ce temps peut être très notablement changé suivant que tel ou tel excitant modificateur vient mêler sa propre réaction à celle qui est en cours d'exécution. Ailleurs, c'est l'intensité d'une riposte qui est modifiée. Enfin, dans une riposte à orientation définie, c'est parfois la direction qui se modifie sous l'influence d'une interférence. Comme ce dernier cas est moins connu, je crois utile d'en citer quelques exemples probants.

La position d'une feuille adulte, par exemple de *Fuchsia*, est déterminée par la collaboration et l'interférence réciproque d'au moins trois réactions : le phototropisme et le géotropisme qui tendent à donner à la feuille une direction transversale par rapport aux excitants, c'est-à-dire la position horizontale, — le nastisme, dû à des causes internes, qui tend à renverser les feuilles vers le dehors, puis vers le bas. La position d'équilibre de la feuille est donc un compromis entre les diverses réactions : il suffit d'ailleurs de soustraire la plante à l'influence directrice de la lumière et de la gravitation pour voir les feuilles se réfléchir complètement, présentant en dehors leur face supérieure. Le phototropisme, le géotropisme et le nastisme étaient donc en conflit et interféraient entre eux. — Une tige phototropique dressée qui est exposée à un éclairement horizontal d'intensité moyenne ne se courbe pas horizontalement vers la source de lumière : le géotropisme tend sans cesse à redresser la tige, et la position finale d'équilibre sera oblique (Czapek, 1895, 2).

Dans ces exemples, les divers excitants en jeu produisent tous des ripostes à orientation définie, et la position d'équilibre est intermédiaire entre celles qu'auraient données les divers excitants, agissant isolément. Il n'en est plus ainsi dans les cas suivants : ici l'excitation interférente n'agit que par son intensité et ne peut donc pas, par elle seule, donner une réaction orientée; mais l'absence de direction de l'excitant n'empêche pas une orientation de l'interférence. Les rhizomes souterrains d'*Adoxa Moschatellina* se placent transversalement par rapport à la pesanteur, c'est-à-dire qu'ils sont horizontaux aussi longtemps qu'ils sont à l'obscurité. Mais dès qu'ils reçoivent la lumière, le sens de leur géotropisme est modifié et ils courbent leur pointe vers le bas (Stahl, 1884, 2). — A la température de 15°-20°, certains *Chromulina* (Flagellates jaunes) montent dans le liquide et s'accumulent dans les couches supérieures. Mais à la température de 5°-7°, leur géotaxisme change de sens, et ils gagnent le fond des récipients (Massart, 1891, 2).

⁂

On peut classer les interférences en deux groupes, suivant qu'elles modifient les diverses ripostes déjà étudiées, ou qu'elles modifient les réactions élémentaires sans lesquelles la vie n'est pas possible.

1° Interférences subies par les ripostes. — Inutile de les décrire en détail : il est évident que toutes les réactions que nous avons étudiées peuvent être modifiées dans leur vitesse et dans leur intensité, à tel point que la riposte peut s'arrêter complètement pour reprendre plus tard, — et qu'en outre les ripostes orientées peuvent être modifiées dans leur direction.

A chaque riposte correspond donc une interférence; celle-ci portera le même nom que la riposte avec remplacement de la terminaison *-isme* par *-ose*. Ainsi, les variations de température modifient le tropisme (tropose, v. p. 322), le mérisme (mérose v. p. 320); beaucoup d'excitants divers influencent le rythme des vacuoles contractiles (sphygmose, v. p. 321)...

2° Interférences subies par les réactions élémentaires. — Il s'agit des réactions très complexes sans lesquelles la vie n'est pas possible : on n'imagine pas un être vivant dans lequel ne s'accomplissent pas des phénomènes chimiques continuels, qui n'est pas le siège d'un dégagement de chaleur et d'électricité, dont le protoplasme n'a pas une certaine perméabilité et une certaine cohésion, dont les cellules n'ont pas de pression osmotique, et qui enfin ne possède pas une forme définie; de plus, chez les plantes, il y a toujours quelque portion en voie de croissance ou capable de se remettre à croître. Or, tous les divers complexes de propriétés et de processus qui amènent le dégagement de chaleur, la croissance, la pression osmotique... peuvent subir des modifications quantitatives sous l'influence d'excitants bien connus. De sorte que, tout en ignorant la façon dont les modifications se produisent dans la cellule vivante, nous pouvons définir l'excitant et le résultat final du réflexe. Nous allons passer en revue ces réactions.

α) *Chimiose.* — Les nombreuses interférences réunies dans cette rubrique rentrent déjà partiellement dans la catégorie des interférences subies par les ripostes, par exemple quand on modifie la vitesse de la sécrétion digestive chez une plante carnivore. Mais les chimioses les plus importantes sont celles qui affectent les phénomènes chimiques fondamentaux du protoplasme. Ne savons-nous pas que l'assimilation du carbone chez les plantes pourvues d'une chromophylle, que les fermentations, que les transformations intimes de substances sont sous la dépendance de multiples excitants?

β) et γ) *Thermose* et *électrose.* — Les modifications dans le dégagement de chaleur et d'électricité sont une suite naturelle des chimioses. Un exemple récent suffira à le montrer : M. Waller (1900) vient d'étudier les variations du potentiel électrique dans les feuilles suivant l'intensité de l'action lumineuse, donc probablement suivant l'intensité de l'assimilation.

δ) *Péranose.* — Modification de la perméabilité protoplasmique, par exemple sous l'influence de la température (Van Rysselberghe, 1901).

ε) *Synaphose.* — Modification de la cohésion du protoplasme. Dans cette rubrique, on peut réunir les phénomènes d'agrégation que présentent les cellules végétales, par exemple sous l'influence de la caféine très diluée : la formation de nombreuses petites vacuoles dans l'endoplasme des Infusoires par l'action de divers excitants; la désagrégation du protoplasme des Vorticelles soumises à l'éther (¹), etc.

ξ) *Tonose.* — Modification de la turgescence (pression osmotique intracellulaire). M. Van Rysselberghe (1899) détermine une augmentation ou une diminution de la turgescence en plongeant les cellules dans des solutions plus concentrées ou dans des solutions moins concentrées que celles qui les baignent normalement.

η) *Auxose* (²). — Modification de la croissance d'un organe ou d'un organisme. Parfois c'est la croissance tout entière, dans les diverses directions de l'espace, qui est influencée; tantôt ce n'est que l'allongement, tantôt ce n'est que l'épaississement. Nous réservons le mot « auxose » aux cas où la croissance générale est altérée; la modification de la croissance en longueur s'appellera *dolichose* (³), et la modification de la croissance en épaisseur, *pachynose.* Citons un exemple de chacun de ces cas.

*Auxose proprement dite.* — L'Ortie a des feuilles opposées; les deux feuilles de chaque paire sont égales. Il en est de même pour des plantes voisines de l'Ortie, par exemple pour le *Pilea trinervia.* Mais ici les feuilles de chaque paire ne sont semblables que sur les rameaux verticaux; dès que les rameaux sont obliques ou à direction horizontale, les feuilles deviennent inégales : celles qui sont dirigées vers le haut deviennent plus petites; celles qui regardent la terre deviennent plus grandes; seules, celles qui se dirigent latéralement ont dans toutes leurs parties les mêmes dimensions que les

---

(¹) Sur ce point paraîtra bientôt un travail de Mˡˡᵉ Stefanowska.

(²) Ne pas confondre « auxose » avec « auxèse », terme proposé par M. Czapek (1898) pour désigner la formation d'organes nouveaux, ce que j'appelle « néisme » (v. p. 325) ou la croissance d'organes latéraux. Au point de vue étymologique, le terme « auxèse » ne convient pas pour désigner la création d'organes.

(³) M. Czapek (1898) n'emploie le mot « dolichose » que pour désigner l'augmentation de la croissance en longueur, tandis que la diminution s'appelle « stase ».

feuilles des rameaux verticaux. La pesanteur a donc affaibli la croissance générale des feuilles qui montent, et elle a renforcé la croissance des feuilles qui descendent.

*Dolichose.* — M. Elfving (1880) et M. Schwarz (1881) ont montré que l'allongement est retardé quand la plante croît avec la tête en bas. D'autre part, nous savons que la lumière, quelle que soit sa direction, ralentit aussi la croissance.

*Pachynose.* — L'épaississement des crochets irritables que possèdent certaines lianes est beaucoup plus intense lorsque le crochet a été excité par le contact que lorsqu'il n'a pas eu l'occasion de saisir un support (Treub, 1883).

θ) *Morphose* (¹). — Modification de la forme et de la structure, principalement chez les végétaux. — La forme d'une plante adulte est le résultat de la superposition d'innombrables réactions : en certains points, les cellules se divisent activement, soit au sommet, soit à la base, soit au pourtour des organes; ceux-ci s'allongent, puis s'arrêtent, puis se remettent à croître; les uns s'accroissent en épaisseur, tandis que les autres gardent éternellement leur diamètre initial; des organes nouveaux naissent en des endroits déterminés; ailleurs, les organes tombent après avoir fait leur temps; certaines portions doivent leur rigidité à leur turgescence; d'autres possèdent des éléments résistants spéciaux; les tiges, les racines, les feuilles, les fleurs, les fruits exécutent les courbures et les torsions les plus variées sous l'action d'une foule d'excitants internes et externes... Et pour changer l'aspect extérieur et même la structure intime de cet édifice si compliqué, pour la construction duquel tant de réflexes ont dû collaborer, il suffit de faire agir un nouvel excitant ou d'enlever un seul des excitants habituels. Placez la plante à l'obscurité, aussitôt tous ses organes aériens deviennent méconnaissables. Mieux encore, soumettez-la à un éclairement continu, en d'autres mots, soustrayez-la aux alternatives d'obscurité et de lumière, et sa struc-

---

(¹) La modification de la forme des végétaux sous l'action de causes externes a été appelée par Sachs (1895) « méchanomorphose ». Notre terme « morphose » embrasse toutes les modifications, quelle que soit l'origine des excitants.

ture se modifie également d'une façon profonde (Bonnier, 1895). Disposez un jeune plante de *Ranunculus aquatilis* de telle manière que certaines feuilles se développent dans l'eau, et d'autres dans l'air humide, et vous constatez que les premières sont découpées en lanières filiformes, qu'elles n'ont pas de stomates et que leurs cellules épidermiques possèdent des chloroplastes, tandis que les feuilles aériennes ont des segments beaucoup plus larges, aplatis, avec une face supérieure et une face inférieure bien distinctes; elles ont des stomates, et leurs cellules épidermiques sont dépourvues de chloroplastes (Askenasy, 1870).

Nous n'essayerons pas d'analyser les interférences si complexes qui conduisent aux changements de forme. Du reste, ce chapitre de la physiologie a été à peine effleuré jusqu'à présent.

### V. — Direction, sens et localisation des réactions.

Il ne nous reste plus guère qu'à proposer un complément de terminologie. Les questions de termes ne sont pas sans importance : les progrès d'une science dépendent, bien plus qu'on ne le croit, de l'existence d'une terminologie claire, précise, logique et uniforme. Or ce sont là des points dont les auteurs semblent n'avoir pas tenu compte dans les noms qui désignent les réflexes sans nerfs.

*A*. ORIENTATION PAR RAPPORT A L'EXCITANT EXTERNE. — D'habitude le mot composé qui désigne le réflexe comprend aussi le sens dans lequel la riposte s'effectue. Ainsi, les racines sont dites prosgéotropiques ou positivement géotropiques, parce qu'elles se dirigent vers la source de l'excitant (la terre); les tiges sont dites apogéotropiques ou négativement géotropiques parce qu'elles s'éloignent de la terre. Il est évident tout d'abord que positif et négatif ne signifient rien. Quant aux mots « pros » (1) et « apo » (2), leur choix est tout à fait arbitraire. En effet, au lieu de considérer le géotropisme d'une plante, voyons comment les choses se présentent pour le rhéotaxisme d'un Infusoire (orientation du corps sous l'influence d'un courant liquide). D'après la terminologie usuelle, il faudra dire prosrhéotaxique quand l'organisme se dirige vers la source de l'excitant, et aporhéotaxique quand il s'en éloigne. Lorsque l'écoulement de l'eau est produit par la pression d'un piston sur la surface du liquide, les individus qui remontent le courant seront dits prosrhéotaxiques. Mais, dans la nature, les courants liquides sont déterminés par la pesanteur; dans un ruisseau, par exemple, la cause du mouvement étant l'attraction de la terre, il faudrait, en bonne logique, nommer prosrhéotaxique l'organisme qui descend le courant. Et comment dira-t-on pour l'Infusoire qui résiste au courant produit dans le liquide par les battements ciliaires d'un Rotifère? Il y a dans ce cas deux courants : l'un qui est dirigé vers le Rotifère, l'autre qui s'en éloigne; suivant que l'Infusoire sera en avant ou en arrière de son ennemi, il sera pros- ou aporhéotaxique. Il serait certes plus logique de désigner l'orientation par la direction de l'organisme relativement au sens du courant et de dire rhéotaxisme *ascendant* ou *anarhéotaxisme*, et rhéotaxisme *descendant* ou *catarhéotaxisme* (¹).

---

(1) Le mot « pros » a été introduit par M. Rothert (1896).

(2) Le mot « apo » a été introduit par Darwin (1882).

La même règle peut s'appliquer à tous les courants réels ou fictifs. Voyons d'abord les excitants mécaniques à direction définie et laissant à l'organisme la liberté de ses mouvements : gravitation, courant liquide, contact. On appellerait *cata-* toute réaction dans laquelle l'organisme ou l'organe suit la direction que tend à lui imprimer l'agent extérieur : la racine serait dite catagéotropique, — les Infusoires qui remontent le courant, anarhéotaxiques, — la racine dont la pointe s'éloigne de l'objet qui la touche, cathaptotropique. On pourrait dire aussi géotropisme descendant, rhéotaxisme ascendant, haptotropisme descendant.

Le sens des excitants physiques et chimiques est comparable à un déplacement. Tout corps dissous diffuse et donne donc lieu à un véritable déplacement de matière. Ici encore nous dirions que la réaction

---

(¹) Les mots *ana-* et *cata-* sont usités dans le même sens en électricité.

est descendante ou ascendante, *cata-* ou *ana-*, selon que l'organisme va dans le même sens que le courant de diffusion ou qu'il se dirige vers les endroits où la concentration est maximum : d'après cette règle, la plupart des organismes d'eau douce sont catatonotaxiques, puisqu'ils fuient les solutions concentrées, et les Bactéries qui se dirigent vers l'extrait de viande sont, pour cette substance, anachimiotaxiques.

Enfin, la lumière, la chaleur, l'électricité, les ondes de Hertz, sont aussi des mouvements vibratoires qui se déplacent ; nous désignerons encore par les termes *cata-* et *ana-* les réactions dans lesquelles l'organisme se déplace dans le même sens que les ondulations, et celles dans lesquelles il va en sens inverse : le *Phycomyces* est anaphototropique, catathermotropique et catahertzotropique ; le *Paramaecium Aurelia* est catélectrotaxique.

Pour les réactions qui ne s'orientent pas parallèlement à la direction des excitants, il n'y a aucune difficulté. Les botanistes sont d'accord pour appeler *transversale* (*dia-*) la réaction dans laquelle l'organe prend une direction perpendiculaire à l'excitant, et *para-*, la position de profil (par exemple les feuilles de l'*Eucalyptus Globulus* adulte). On pourrait y ajouter *plagio-*, pour la direction oblique, par exemple la tige des plantes volubles.

*B*. Orientation par rapport au corps. — Contentons-nous d'indiquer les principes qui pourraient servir de guide pour désigner ces orientations.

Le choix des termes adoptés ne me paraît pas heureux. Alors que les courbures tropiques sont définies par le sens de la riposte, les courbures nastiques sont définies par la face qui s'accroît le plus ; ainsi l'on appelle épinastique un organe qui se dirige vers le bas. Mieux vaudrait renoncer aux mots épi et hypo, qui pourraient amener des confusions avec le géotropisme, et désigner les nastismes par le sens vers lequel l'organe se courbe : le mouvement d'épanouissement des fleurs et d'étalement des feuilles s'appellerait *exonastisme ;* le mouvement inverse, *endonastisme ;* la courbure d'une tige rampante vers sa face ventrale (inférieure), *gastronastisme* (par exemple chez *Lysimachia Nummularia*) ; la courbure des racines secondaires nées sur une racine arquée, vers la face convexe (voir p. 511), *cyrtonastisme* le redressement des organes courbés récemment, *orthonastisme*.

Les clinismes étudiés chez les Infusoires pourraient être désignés par ces mots : *noto-*, *gastro-*, *dextro-*, *lévoclinisme*, selon que l'individu se tourne vers la face dorsale, vers la face centrale, vers son bord droit ou vers son bord gauche.

### VI. — Intensité et vitesse des réactions.

La terminologie dont nous avons indiqué les bases dans le chapitre précédent s'applique particulièrement aux ripostes. Nous avons à voir maintenant comment on peut nommer les variations d'intensité et de vitesse des interférences. Il serait utile d'indiquer le sens de la variation par un infixe ajouté au mot composé qui représente le réflexe total.

Quand l'interférence consiste en un amoindrissement général de la réaction, on pourrait dire *mio* : tantôt c'est un ralentissement, *brady;* tantôt c'est un affaiblissement de l'intensité de la réaction, *oligo*.

Quand l'interférence consiste en un agrandissement général de la réaction, on pourrait dire *plio* : tantôt c'est une accélération, *tachy;* tantôt c'est un renforcement de l'intensité de la réaction, *cratéro*.

Parfois l'amoindrissement de la réaction est tel que la réaction s'arrête. Nous en avons vu des exemples dans l'influence inhibitrice du sommet sur la croissance des bourgeons axillaires (v. p. 502) et dans l'arrêt qui frappe les cellules rhizogènes sur la face concave d'une racine arquée (v. p. 525). Nous savons aussi que le nectisme des *Bacterium photometricum* s'arrête au moment où on les place à l'obscurité (Engelmann, 1882). Ces arrêts peuvent être désignés par *pausi*.

D'autre part, la vacuole contractile d'un Infusoire encysté se remet à battre sous l'action d'une solution saline (v. p. 521). Tout réveil d'un phénomène momentanément arrêté pourrait être indiqué par *égiro*. Dans l'exemple que nous venons de citer, la solution saline agit par sa pression osmotique, et nous appellerons le réflexe : tonégirosphygmose.

Dans certains cas, la croissance subit une modification très curieuse : il se produit un véritable phénomène de balancement. Nous en connaissons déjà un exemple : les *Pilea* (v. p. 334), chez lesquels les rameaux horizontaux portent vers le haut des feuilles plus petites que celles des rameaux verticaux, — et vers le bas, des feuilles plus grandes, — tandis que les feuilles qui sont dans le plan du rameau ont les mêmes dimensions que sur les tiges dressées. M. Wiesner, (1868) qui s'est beaucoup occupé de ce phénomène, lui a donné le nom d'anisophyllie. C'est aussi à M. Wiesner que nous devons la connaissance de balancements dans la croissance en épaisseur : les branches horizontales du Tilleul (*Tilia*) ont les couches annuelles plus épaisses vers le haut que vers le bas (*épitrophie*); chez l'If (*Taxus*), c'est le contraire (*hypotrophie*). Ces deux termes (¹) viennent de M. Wiesner (1889). En réalité, il n'y a pas de différence fondamentale entre le balancement de la croissance générale des feuilles et le balancement de la croissance en épaisseur des branches; le premier est une auxose, le second une pachynose; il serait logique de désigner le phénomène de balancement par *aniso*.

A l'encontre de ce qui se passe pour les autres interférences, cette réaction-ci est orientée. On pourrait désigner l'orientation par la direction dans laquelle l'accroissement est prépondérant. Ainsi, l'inégal développement des feuilles de *Pilea* (sous l'action de la pesanteur) s'appellerait géanisauxose descendante, et le même phénomène pour l'épaississement du Tilleul s'appellerait géanisopachynose ascendante.

## VII. — Quelques termes généraux.

Il est toujours fort désagréable d'avoir à employer une longue périphrase pour exprimer une idée, surtout lorsque cette périphrase

---

(¹) Ils ne me semblent pas heureux : en effet, le phénomène nutritif n'est pas ici à l'avant-plan.

doit revenir souvent. Aussi me permettrai-je de proposer quelques termes qui n'ont d'autre but que de remplacer chacun une périphrase.

*Oxynésie*. La faculté de l'organisme de produire une excitation.

*Esthésie* (¹). La faculté de l'organisme de sentir une excitation. Ce terme est à subdiviser en *autesthésie*, sensibilité aux excitants internes (par exemple camptesthésie, sensibilité à l'arcure), et *cosmesthésie* sensibilité aux existants externes (par exemple thermesthésie, sensibilité à la chaleur).

*Tonésie*. Faculté de l'organisme de manifester un tonus.
*Ergésie*. — — — une riposte.
*Allésie*. — — — une interférence.

Les mots que je viens de signaler se rapportent aux propriétés de l'organisme. Mais il serait également utile d'avoir des mots pour exprimer la faculté que possède l'excitant de provoquer telle ou telle réaction. On pourrait former ces mots en *-agogue*. Ainsi, la lumière est tonésagogue quand elle donne à la Sensitive le tonus nécessaire; elle est taxagogue ou tropagogue quand elle provoque un taxisme ou un tropisme ; elle est auxotagogue, quand elle modifie la croissance...

*Sit venia verbis*.

## BIBLIOGRAPHIE.

1891. J. af Klercker, Ueber caloritropische Erscheinungen bei einigen Keimwurzeln. (*Ofversigt af Kongl. Vet.-Akad. Forhandl.*, n° 10, Stockholm.)

1870. E. Askenasy, Ueber den Einfluss des Wachsthumsmediums auf die Gestalt der Pflanzen. (*Bot. Zeit.*, 1870, S. 193.)

1895. G. Bonnier, Influence de la lumière électrique continue sur la forme et la structure des plantes. (*Rev. gén. Bot.*, t. VII, p. 241.)

1895, 1. Fr. Czapek, Untersuchungen über Geotropismus. (*Jahrb. f. wiss. Bot.*, Bd 27, S. 243.)

1895, 2. — Ueber Zusammenwirken von Heliotropismus und Geotropismus. (*Sitzungsb. kais. Akad. Wiss. Wien. Math.-nat. Classe*, Bd CIV, Abth. I, März 1895.)

---

(¹) Ce terme a déjà été proposé par M. Czapek (1898).

1898. **Fr. Czapek**, Weitere Beiträge zur Kenntniss der geotropischen Reizbewegungen. (*Jahrb. f. wiss. Bot.*, Bd 22, S. 175.)

1882. **Ch. Darwin**, *La Faculté motrice dans les plantes.* (Trad. franc.)

1872. **H. de Vries**, Ueber einige Ursachen der Richtung bilateralsymmetrischer Pflanzentheile. (*Arb. d. bot. Inst. zu Würzburg.* Bd I, S. 223.)

1891. **E. de Wildeman**, Recherches sur l'influence de la température sur la marche, la durée et la fréquence des caryocinèses dans le règne végétal. (*Ann. Soc. belge. microsc.* [*Mémoires*], t. XV, p. 5.)

1880. **Fr. Elfving**, Beitrag zur Kenntniss der physiolog. Einwirkung der Schwerkraft auf die Pflanzen. (*Acta. Soc. Fenn.*, t. XII. Cité d'après Czapek, 1898.)

1881. **W. Engelmann**, Neue Methode zur Untersuchung der Sauerstoffausscheidung. (*Bot. Zeit.*, 1881, S. 441.)

1882. — Bacterium photometricum. (*Pflüger's Archiv*, Bd 30.)

1888. — Die Purpurbacterien und ihre Beziehung zum Licht. (*Bot. Zeit.*, 1888.)

1884. **L. Errera**, Die grosse Wachsthumsperiode bei den Fruchtträgern von Phycomyces. (*Bot. Zeit.*, 1884, S. 497.)

1894. — La pointe de la racine. (*Bull. Soc. roy. bot. Belg.*, t. XXXIII, 2e partie, p. 87.)

1896. — Essais de philosophie botanique. I. L'Optimum. (*Rev. Univ. Brux.*, t. I.)

1900 **G. Haberlandt**, Ueber die Perception des geotropischen Reizes. (*Ber. d. deutsche bot. Ges.*, Bd 18, S. 261.)

1891 **R. Hegler**, Ueber die physiologische Wirkung der Hertz'schen Elektricitätswellen auf Pflanzen. (*Verh. d. Ges. deutscher Naturf. u. Aerzte*, Halle, 1891.)

1897. **H. S. Jennings**, Studies on the reactions to stimuli in unicellular organisms. I. Reactions to chemical, osmotic and mechanical stimuli in the ciliate Infusoria. (*Journal of Physiology*, vol. XXI.)

1899. — Studies, etc. II. The mechanism of the motor reactions of Paramaecium. (*Am. Journal of Physiol.*, vol. II.)

1900. — Studies, etc. V. On the movements and motor reflexes of the Flagellata and Ciliata. (*Am. Journal of Physiol.*, vol. III.)

1892. **P. Jensen**, Ueber den Geotropismus niederer Organismen. (*Pfluger's Archiv*, Bd LIII.)

1883. **B. Jönsson**, Der richtende Einfluss strömenden Wassers auf wachsende Pflanzen und Pflanzentheile (Rheotropismus). (*Ber. deutsch. bot. Ges.*, Bd I, S. 512.)

1886. **G. Klebs**, Ueber die Organisation der Gallerte bei einigen Algen und Flagellaten. (*Arb. a. d. bot. Inst. zu Tübingen*, Bd II, S. 333.)

1886. **F. G. Kohl**, *Die Transpiration der Pflanzen.* Braunschweig, H. Bruhn, 1886.

1890. **F. Le Dantec**, Recherches sur la digestion intracellulaire chez les Protozaires. (*Ann. Inst. Past.*, vol. IV, p. 776.)

1890. J. **Loeb**, *Der Heliotropismus der Thiere und seine Uebereinstimmung mit dem Heliotropismus der Pflanzen.* (Würzburg, 1890.)

1891. — Ueber Geotropismus bei Thieren. (*Pflüger's Archiv*, Bd XLIX, S. 175.)

1895. **Ludloff**, Untersuchungen über den Galvanotropismus. (*Pflüger's Archiv*, Bd LIX.)

1890. J. **Massart** et Ch. **Bordet**, Recherches sur l'irritabilité des leucocytes. (*Journ. Soc. roy. Sc. méd. et nat.* Bruxelles, février 1890.)

1889. J. **Massart**, Sensibilité et adaptation des organismes à la concentration des solutions salines. (*Arch. de Biologie,* t. IX.)

1890. — La sensibilité tactile chez les organismes inférieurs. (*Journ. Soc. roy Sc. méd. et nat.* Bruxelles, 1er décembre 1890.)

1891, 1. — Recherches sur les organismes inférieurs. — II. La sensibilité à la concentration chez les êtres unicellulaires marins. (*Bull. Acad. roy. Sc. Belg* [3], t. XXII, p. 148.)

1891, 2. — Recherches, etc. — III. La sensibilité à la gravitation. (*Ibidem.*)

1893. — Sur l'irritabilité des Noctiluques. (*Bull. scient. France et Belg.*, t. XXV, p. 59.)

1898. — La cicatrisation chez les végétaux. (*Mém. cour. Acad. roy. Belgique,* t. LVII.)

1901. — Le lancement des trichocystes chez *Paramaecium Aurelia.* (*Bull. Acad. roy. Sc. Belg.*, n° 2, p. 91, 1901.)

1895. **Mendelssohn**, Ueber den Thermotropismus einzelliger Organismen. (*Pflüger's Archiv,* Bd LX.)

1900. B. **Nemec**, Ueber die Art der Wahrnehmung des Schwerkraftreizes bei den Pflanzen. (*Ber. d. deutsch. bot. Ges.*, Bd 18, S. 241.)

1900. Fr. **Noll**, Ueber den bestimmenden Einfluss von Wurzelkrümmungen auf Entstehung und Anordnung von Seitenwurzeln. (*Landwirthsch. Jahrb.*, 1900.)

1900. R. **Pearl**, On the reactions of certain Infusoria to the electric current. (*Am. Journ. Physiol.*, vol. IV, p. 96.)

1875. W. **Pfeffer**, *Die periodischen Bewegungen der Blattorgane.*

1884. — Locomotorische Richtungsbewegungen durch chemische Reize. (*Unters. a. d. bot. Institut zu Tübingen*, Bd I.)

1885. — Zur Kenntniss der Contactreize. (*Unters. a. d. bot. Institut zu Tübingen*, Bd I, S. 483.)

1888. — Ueber chemotactische Bewegungen von Bacterien, Flagellaten und Volvocineen. (*Unters. a. d. bot. Institut zu Tübingen*, Bd II.)

1891. — Mittheilungen über Versuche Hegler's « Ueber den Einfluss von Zugkräften auf Pflanzen ». (*Sitzb. d. Sächs. Gesellsch. d. Wissensch.*, 1891, S. 638.)

1893. — Druck- und Arbeitsleistung durch wachsende Pflanzen. (*Abh. math.-phys. Classe d. Kön. Sächs. Ges. d. Wissensch.*, Bd XX, S. 235.)

1900. A. Pütter, Studien über Thigmotaxis bei Protisten. (*Arch. f. Anat. u. Physiol.* Phys. Abth. Supplementband, S. 243.)

1872. M. J. Rossbach, Die rythmischen Bewegungserscheinungen der einfachsten Organismen und ihr Verhalten gegen physikalischen Agentien und Arzneimittel. (*Verh. d. physik.-medic. Ges. Würzburg.* N. F., Bd II, S. 179.)

1896. W. Rothert, Ueber Heliotropismus. (*Beiträge zur Biologie der Pflanzen,* Bd VII, S. 1.)

1901. — Beobachtungen und Betrachtungen über tactische Reizerscheinungen. (*Flora,* Bd 88, S. 371.)

1872. J. Sachs, Ablenkung der Wurzel von ihrer normalen Wachsthumsrichtung durch feuchte Körper (*Arb. d. bot. Inst. zu Würzburg,* Bd I, S. 209.)

1873-1874. — Ueber das Wachsthum der Haupt- und Nebenwurzeln. (*Ibidem,* S. 385 und 584.)

1894. — Physiologische Notizen. VIII. Mechanomorphose und Phylogenie. (*Flora,* Bd 78, S. 275.)

1881. Fr. Schwarz, Der Einfluss der Schwerkraft auf das Längenwachsthum der Pflanzen. (*Unt. a. d. bot. Inst. zu Tübingen,* Bd I, S. 53.)

1892. S. Schwendener und G. Krabbe, Untersuchungen über die Orientirungstorsionen der Blätter und Blüthen. (*Abh. d. k. preuss. Akad. d. Wissensch.,* 1892.)

1880. E. Stahl, Ueber den Einfluss von Richtung and Stärke der Beleuchtung auf einige Bewegungserscheinungen im Pflanzenreiche. (*Bot. Zeit.,* 1880, S. 393.)

1884, 1. — Zur Biologie der Myxomyceten. (*Bot. Zeit.,* S. 145.)

1884, 2. — Einfluss des Lichtes auf den Geotropismus einiger Pflanzenorgane. (*Ber. d. deutsche bot. Ges.,* Bd II, S. 383.)

1885. — Einfluss der Beleuchtungsrichtung auf die Theilung der Equisetumsporen. (*Ber. d. deutsche bot. Ges.,* Bd III, S. 334.)

1878. E. Strasburger, Einfluss des Lichtes und der Wärme auf Schwarmsporen. (*Jenaische Zeitschrift f. Naturf.,* Bd XII.)

1883. M. Treub, Sur une nouvelle catégorie de plantes grimpantes. (*Ann. Jard. Bot. Buitenzorg,* t. III, p. 44.)

1899. Fr. van Rysselberghe, Réaction osmotique des cellules végétales à la concentration du milieu. (*Mém. cour. Acad. roy. Belg.,* t. LVIII.)

1901. — Influence de la température sur la perméabilité du protoplasme vivant pour l'eau et les substances dissoutes. (*Bull. Acad. roy. Sc. Belg.,* p. 173, mars 1901.)

1889, 1. M. Verworn, Die polare Erregung der Protisten durch den galvanischen Strom. (*Pflüger's Archiv,* Bd XLV et XLVI.)

1889, 2. — *Psycho-physiologische Protistenstudien.* (Jena, 1889.)

1896. M. VERWORN, Die polare Erregung der lebendigen Substanz. IV. Mitth. (*Pflüger's Archiv*, Bd LXV.)

1900. — *Physiologie générale*. Trad. franç. (Paris, 1900.)

1878 et 1884. H. VÖCHTING, *Ueber Organbildung im Pflanzenreich*. I. Th., Bonn, 1878; II. Th., Bonn, 1884.

1882. — *Bewegungen der Blüthen und Früchte*. (Bonn, 1882.)

1892. — *Ueber Transplantation am Pflanzenkörper*. (Tübingen, 1892.)

1900. A. D. WALLER, Four observations concerning the electrical effects of light upon Green Leaves. (*Proc. Physiolog. Soc.* June, 30, 1900.)

1895. H. J. WEBBER, Studies on the Dissemination and Leaf Reflexion of Yucca aloifolia and other species. (*Sixth ann. Rep. of the Missouri Botan. Garden*, p. 91.)

1868. J. WIESNER, Beobachtungen über den Einfluss der Erdschwere auf Grössen und Formverhältnisse der Blätter. (*Sitzb. d. math.-naturw. Cl. d. Akad. d. Wiss. in Wien*, Bd LVIII, Abth. I, S. 369.)

1878 et 1880.— Die heliotropischen Erscheinungen im Pflanzenreiche. (I. Th. *Denkschr. d. k. Akad. d. Wiss. z. Wien.*, Bd XXXIX; II. Th. *Ibid.* 1889.)

1889. — *Biologie der Pflanzen*. (Wien, 1889.)

# SUR
# UNE
# BACTÉRIE DE GRANDES DIMENSIONS :
# *SPIRILLUM COLOSSUS*

PAR

**L. ERRERA** (1)

Il existe à Palingsbrug, près de Nieuport, à plus de 3 kilomètres de la mer, un ancien fossé des fortifications dont les conditions biologiques sont très intéressantes. De temps en temps, l'eau de mer y arrive par une écluse destinée à alimenter une huîtrière; quoiqu'elle y soit diluée par de l'eau douce (eau des pluies, etc.), elle y constitue encore un mélange fortement salin, d'une densité de 1.023 (2).

La végétation phanérogamique du fossé présente une association curieuse de plantes maritimes et de plantes d'eau douce : le *Ruppia maritima* var. *rostellata*, l'*Aster Tripolium* et quelques pieds de *Salicornia herbacea* y voisinent avec le Roseau commun (*Phragmites communis*). La flore microscopique est plus remarquable encore. Je puis dire ici que mon collègue M. Massart y a découvert plusieurs espèces nouvelles : un *Beggiatoa*, qu'il appelle *B. pigra*, une Protomastiginée (*Plagiostomum spirale*), deux Flagellates jaunes (*Chromulina bigranulata, Prymnesium saltans*), une Cryptomonadinée (*Cryptomonas margaritifera*), une Eugléninée (*Chasmostomum biconicum*), deux Volvocinées (*Carteria excavata, Chlamydophacus compressus*) et cinq Péridiniens (*Gymnodinium vorax, G. asymmetricum, G. cruciatum, Glenodinium marinum, Gl. regulare*) (1). J'ai eu l'occasion, d'autre part, d'y trouver, à côté de beaucoup de Thiobactéries, un *Labyrinthula* (genre qui n'avait point encore été rencontré en Belgique, à ma connaissance), ainsi que le Spirille que je me propose de décrire dans cette Note et dont je présente à la Société des préparations à l'état vivant. Je lui donnerai le nom de *Spirillum Colossus*.

---

(1) Cette note paraît simultanément ici et dans le *Bulletin de la Société royale des sciences médicales et naturelles de Bruxelles*, décembre 1901.

(2) Déterminée par M. Massart. On sait que la densité de l'eau de mer, le long de nos côtes, est 1.026.

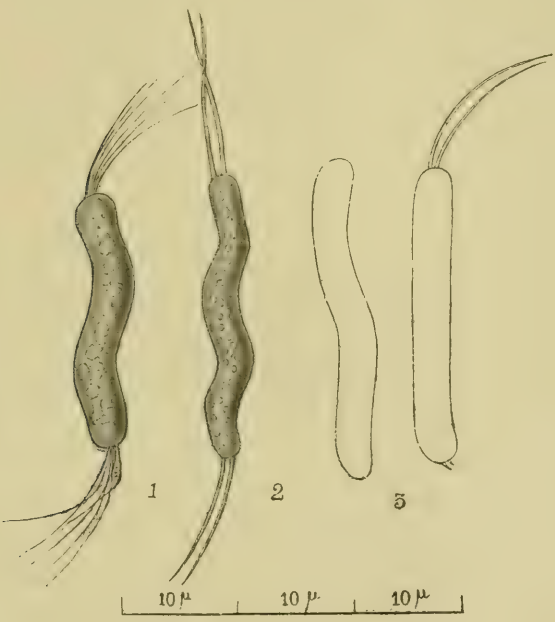
⁂

La cellule de ce Spirille (fig. 1 et 2) vraiment énorme mesure 2,5-3,5 μ d'épaisseur. Elle forme généralement $^1/_2$-$2\,^1/_2$ tours de spire. Chaque tour a, en moyenne, 14-15 μ de hauteur sur 5-6 μ de large, soit un rapport de 2,5 ou 3 : 1. Assez souvent, les tours de spire sont plus étroits encore et le corps est à peine sinueux ou même presque rectiligne (fig. 3).

Les fouets sont très visibles sur le vif : avec un bon éclairage, un grossissement de 200 diamètres suffit. On en compte plusieurs (4 à 8) à chaque bout de la cellule, comme le montre la figure 1. Quelques individus (probablement ceux qui sont récemment divisés) n'en présentent qu'à un seul bout; parfois, cependant, on remarque à l'autre bout des moignons ou des rudiments qui sont des restes de fouets brisés ou des débuts de fouets nouveaux (fig. 3, individu de droite). Les fouets sont fort longs (10-16 μ). Ils s'agglomèrent souvent en une, deux ou, rarement, trois touffes assez grosses, plus larges à leur base qu'à leur sommet (fig. 2 et 3) : c'est là une

---

(1) Ces organismes seront prochainement décrits par M. Massart dans les *Annales du Musée royal d'histoire naturelle de Bruxelles*.



*Spirillum Colossus.*

FIG. 1 : Spirille vivant, montrant nettement les fouets, ainsi que les grains internes. — FIG. 2 : Spirille tué par l'iode. Les fouets étaient agglomérés à chaque bout en deux touffes; les grains internes colorés en jaune-brun. — FIG. 3 : Deux Spirilles très faiblement sinueux. L'un présente, à un bout, deux touffes de fouets et, à l'autre, deux rudiments semblables.
Grossissement de toutes ces figures : $^{1500}/_{1}$.

apparence connue chez les Bactéries (1). Le détail des fouets s'aperçoit le mieux sur des Spirilles accidentellement arrêtés, ou morts récemment dans leur liquide de séjour, ou encore tués par l'iode.

Quant aux mouvements des fouets, on y observe diverses particularités intéressantes. Il n'est pas rare de voir des individus, presque immobiles, rejeter d'un coup sec, alternativement d'un côté et de l'autre, toute la touffe de fouets d'une de leurs extrémités : on dirait qu'ils se battent les flancs avec cette sorte de queue. On s'assure aussi que les mouvements des fouets de l'une des extrémités du corps sont indépendants de ceux des fouets de l'autre bout.

Le contenu cellulaire de notre Spirille est incolore, modérément réfringent. Il renferme des granules pâles, assez gros (fig. 1 et 2) : ce ne sont pas des grains de soufre. Entre nicols croisés, je n'ai pu constater aucune biréfringence. Par l'iodure de potassium tenant en dissolution 1 °/₀ d'iode, les granules prennent une teinte variable : tantôt ils se colorent seulement en jaune verdâtre, tantôt en jaune doré, tantôt en jaune d'or un peu brunâtre. Il m'a semblé que les teintes brunâtres s'obtenaient chez des individus fraîchement retirés de leur liquide de séjour, tandis que les teintes les plus jaunes se présentaient chez ceux que l'on a cultivés quelques jours dans une mince couche de liquide, sur la lame — par conséquent, dans des conditions de vie moins favorables. Il y a quelquefois de ces différences de teinte pour les granules d'une même cellule du *Spirillum*. Colorés faiblement ou fortement par l'iode, ces granules se montrent nombreux, assez irréguliers, de dimensions très variables (fig. 1 et 2), à contour bien net, moins réfringents à leur centre qu'à leur périphérie, accumulés surtout vers le milieu de la cellule et laissant les bouts plus ou moins libres. Lorsqu'ils ont pris par l'iode une coloration brunâtre, fût-elle très faible, ils pâlissent à chaud et passent au jaune doré, pour revenir à leur coloration primitive par le refroidissement. L'addition d'acide sulfurique ne fait point virer leur teinte au violet.

---

(1) W. Migula, *System der Bakterien*, Bd I, 1897, S. 120.

Les fouets ne se colorent pas du tout par l'iode; le protoplasme devient jaune pâle.

Par le chlorure de zinc iodé, les grains présentent la même coloration que par l'iode seul.

Le protoplasme de notre Spirille se colore assez bien par le violet de gentiane en solution aqueuse; ses granules se colorent fortement (fig. 4 et 5); les fouets restent incolores.

Le réactif de Millon, en excès (de façon à précipiter d'abord les chlorures de l'eau saumâtre), soit à froid, soit après chauffage, n'a produit aucune coloration rose dans le Spirille et je n'ai plus retrouvé nettement ses granules. Mais il faut remarquer que d'autres organismes de petite taille, de la même préparation (*Spirulina*, petites espèces de *Beggiatoa*, la plupart des Diatomées), ne présentent pas non plus la réaction de Millon, tandis qu'on l'observe chez les gros *Beggiatoa* et chez les Infusoires. Son absence ne prouve donc rien dans le cas actuel. J'ajouterai que, par l'action de ce réactif, surtout après chauffage, la membrane cellulaire du *Spirillum* se sépare du contenu, se soulève et devient extrêmement apparente.

Les teintes diverses que prennent les granules du *Spirillum* sous l'influence de l'iode pourraient s'expliquer de plusieurs manières; par exemple, en admettant qu'ils sont formés d'une substance solide, colorable en jaune par ce réactif et pouvant s'imprégner d'une autre substance colorable en brun, en quantité variable suivant les conditions de nutrition.

⁂

Les deux Spirilles les plus volumineux qui soient mentionnés dans la Flore bactériologique la plus récente et la plus complète que nous possédions — celle de Migula — sont le *Sp. volutans* Ehrenberg et le *Sp. giganteum* Migula.

Le *Spirillum Colossus* se distingue aisément du *Sp. volutans* tel que Cohn l'a décrit et figuré dans son mémoire classique (1). Ce dernier n'a, en effet, que 1,5 μ d'épaisseur (1,5-2 μ selon Migula) (2); il forme ordinairement 2 $^1/_2$ à 3 $^1/_2$ tours de spire; la hauteur de chaque tour est seulement double de sa largeur. En outre, le contenu granuleux est foncé et dense, et Migula indique à chaque extrémité de la cellule une touffe de dix à quinze fouets. Le *Spirillum volutans*, bien que désigné par Cohn comme « un géant parmi les Bactéries », est donc mince et élégant en comparaison de la forme de Nieuport.

Celle-ci se rapproche davantage, comme aspect général, du Spirille que Kutscher a trouvé dans le purin et qu'il a regardé comme *Sp. volutans* (3), tandis que Migula en a fait, sans doute avec raison, une espèce particulière sous le nom de *Sp. giganteum* (1). Suivant Migula, le *Sp. giganteum* se distingue en ce qu'il est plus court, plus épais, plus irrégulier que le *Sp. volutans*; Kutscher insiste sur la variété de ses formes qui peuvent aller de l'hélice à tours larges jusqu'au bâtonnet droit, et il y a observé jusqu'à huit fouets allongés.

---

(1) F. COHN, *Untersuchungen über Bakterien.* (BEITR. Z. BIOL. DER PFLANZEN, Bd I, 2, 1872, S. 181.)

(2) W. MIGULA, *System der Bakterien*, Bd II, 1900, S. 1025.

(3) KUTSCHER, *Die Vibrionen- und Spirillenflora der Düngerjauche.* (ZEITSCHR. F. HYG. UND INFECTIONS-KRANKHEITEN, Bd XX, 1895, SS. 49, 50, 58, 59.)

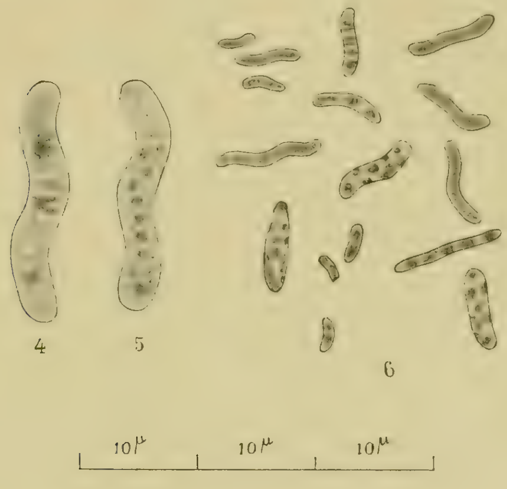


FIG. 4 ET 5 : *Spirillum Colossus*, séché, coloré au violet de gentiane, monté au baume. Les grains et masses foncés ont pris fortement le violet. Dans la figure 4, on remarque quelques vacuoles demeurées incolores. — FIG. 6 : *Spirillum giganteum* Migula, séché, flambé, coloré au violet de gentiane, monté au baume. Les grains foncés ont pris fortement le violet. (D'après une préparation de M. le Prof$^{r}$ Migula.)

Grossissement de toutes ces figures : $^{1500}/_{1}$.

---

(1) MIGULA, *Op. cit.*, Bd II, SS. 1025-1026.

Comme le *Sp. giganteum* n'a pas encore été figuré et que ses dimensions exactes n'ont pas non plus été publiées, j'ai prié mon collègue M. Migula de vouloir bien m'en communiquer des préparations, ce qu'il s'est empressé de faire avec une amabilité dont je tiens à le remercier ici. J'ai pu disposer de deux préparations provenant d'une culture pure, colorées au violet de gentiane et montées au baume.

La longueur des individus et la largeur des tours de spire y sont extrêmement variables, ainsi que le signale Kutscher et que le montre notre figure 6. Dans les cellules, il y a des granules qui rappellent, comme aspect et comme nombre, ceux du Spirille de Nieuport; comme eux, ils sont nettement colorés par le violet de gentiane. Outre les individus formant un à deux tours de spire, il y en a beaucoup qui n'ont qu'un demi-tour et constituent une simple virgule.

Les dimensions du *Sp. giganteum* sont notablement inférieures à celles du *Sp. Colossus*. C'est ce qui résulte des mesures suivantes. Afin de tenir compte du ratatinement possible des Bactéries par l'effet de la dessiccation et de la chaleur (1), j'ai pris deux séries de mesures sur des préparations traitées comme celles de M. le Prof^r^ Migula; mais on verra que, dans le cas actuel, le ratatinement ne se manifeste pour ainsi dire pas. Toutes les mesures sont en microns.

---

(1) Voir, par exemple, à ce sujet, les remarques récentes de GOTTHEIL, *Botan. Beschreibung einiger Bodenbakterien.* (CENTRALBL. F. BACTERIOL., II. Abth., 1901, Bd VII, S. 461.)

| DIMENSIONS. | | SPIRILLUM GIGANTEUM Migula<br>Spirilles séchés, flambés, colorés au violet de gentiane, montés au baume. | SPIRILLUM COLOSSUS. | | |
|---|---|---|---|---|---|
| | | | Spirilles séchés, non flambés, colorés au violet de gentiane, montés au baume. | Spirilles séchés, flambés, colorés au violet de gentiane, montés au baume. | Spirilles frais. |
| Épaisseur des cellules | Minimum. | 0,9 | 3,1 | 3 | 3 |
| | Moyenne. | 1,35 | | | |
| | Maximum | 2,1 | | | |
| Hauteur d'un tour de spire | Minimum. | 6,3 | 13,7 | 13,4 | 14 |
| | Moyenne. | 7,5 | | | |
| | Maximum. | 8,4 | | | |
| Largeur d'un tour de spire | Minimum. | 1,8 | 5,8 | 5,4 | 5,5 |
| | Moyenne. | 2,4 | | | |
| | Maximum. | 3 | | | |

Si le *Spirillum volutans* et le *Sp. giganteum* ne peuvent être confondus avec le *Sp. Colossus*, je serai beaucoup moins affirmatif relativement à une forme marine des côtes danoises, que Warming a décrite (1) sous le nom de *Sp. volutans* var. *robustum*. Migula ne la mentionne pas. Il me paraît utile de transcrire ici tout le paragraphe que Warming lui consacre dans son résumé français :

« *Spirillum volutans*, var. *robustum*. Je crois pouvoir considérer la forme représentée planche IX, figure 3, comme une variété du *Sp. volutans*. Son épaisseur est de 2 à 4,5 μ; d'ordinaire, la hauteur et le diamètre de sa spire sont de 10-20 μ et 1-3 μ. Je n'en ai point vu qui eussent beaucoup plus d'un tour et demi de spire. La granulation du plasma est bien accusée; dans quelques cas, assez grossière. Le cil est facile à voir; il peut s'en trouver deux au même bout. Chez cette espèce et chez le *Spirillum volutans,* le mouvement du corps est exactement le même que celui de l'*Ophidomonas.* »

---

(1) E. WARMING, *Om nogle ved Danmarks Kyster levende Bakterier*, VIDENSKAB. MEDDELELSER FRA DEN NATURHISTORISKE FORENING I KJÖBENHAVN, 1875, S. 377; et 1876, S. 23 (résumé français).

Les figures et le texte danois confirment l'impression que cette forme pourrait bien être identique à celle de Nieuport. Si les mesures données par l'auteur sont exactes, son Spirille diffère cependant du nôtre par la largeur beaucoup moindre des tours de spire : 1-3 μ au lieu de 5-6 μ. La hauteur d'une spire serait ainsi, dans la forme de Warming, égale à 5 ou 10 fois sa largeur, tandis que, dans la nôtre, le rapport n'est que 2,5 ou 3. Mais, malgré la concordance du texte danois et du résumé français à cet égard, l'examen des figures porte à supposer qu'il y a là un lapsus et que le Spirille danois est le même que celui de la côte belge. Quant aux fouets, la divergence entre la description de Warming et la nôtre est évidemment due au perfectionnement des objectifs : ceux de 1875 ne permettaient guère de « résoudre » les touffes terminales en leurs éléments constitutifs.

Quoi qu'il en soit, le Spirille en question, oublié, semble-t-il, par les auteurs récents, mérite d'être signalé à nouveau et d'être considéré comme une espèce distincte. N'était l'incertitude que je viens d'indiquer, j'aurais conservé la désignation de Warming et appelé notre Spirille : *Sp. robustum.* C'est sans doute la plus grosse des Bactéries proprement dites que l'on ait observées jusqu'ici. Elle ne me paraît avoir pour rivales en épaisseur que deux autres Bactéries marines, découvertes par Warming et décrites dans le travail que je viens de citer : le *Spirochaete gigantea* qui a environ 3 μ d'épaisseur et le *Spiromonas Cohnii* qui en mesure 1,2 à 4. Le *Spirobacillus gigas* de Certes, malgré son immense longueur et la centaine de tours de spire qu'il peut présenter, ne dépasse pas 1 μ d'épaisseur (1). En revanche, parmi les Thiobactéries, il y a, comme on sait, diverses espèces bien plus volumineuses : plusieurs *Beggiatoa*, le gros *Achromatium* (qui a 22 μ d'épaisseur) et certains *Thiospirillum*.

Bruxelles, Institut botanique.

---

(1) A. CERTES, *Sur un Spirille géant développé dans les cultures de sédiments d'eau douce d'Aden.* (BULL. SOC. ZOOL. DE FRANCE, 1889, p. 322) et *Colorabilité élective du « Spirobacillus gigas », etc.* (CONGR. ASSOC. FR. POUR L'AVANCEM. DES SCIENCES, 1900.) — Ce Spirille ne figure pas dans l'ouvrage de Migula.

New York Botanical Garden Library
3 5185 00280 2989